

Vliv vybraných faktorů na mikrobiologii mléka

Bc. Tereza Bena

Diplomová práce
2022



Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně
Fakulta technologická

Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně
Fakulta technologická
Ústav technologie potravin

Akademický rok: 2021/2022

ZADÁNÍ DIPLOMOVÉ PRÁCE

(projektu, uměleckého díla, uměleckého výkonu)

Jméno a příjmení: **Bc. Tereza Bena**
Osobní číslo: **T20816**
Studijní program: **N0721A210004 Technologie potravin**
Forma studia: **Kombinovaná**
Téma práce: **Vliv vybraných faktorů na mikrobiologii mléka**

Zásady pro vypracování

I. Teoretická část

1. Charakterizujte zdroje mikroorganismů v mléce a popište mikrobiální zastoupení mléka.
2. Charakterizujte faktory, které mohou ovlivnit mikrobiologii mléka.
3. Popište možnosti snížení počtu mikroorganismů.
4. Objasněte rozdíly mezi konvenčním a ekologickým zemědělstvím.

II. Praktická část

1. Odebírejte vzorky syrového mléka v průběhu laktace od vybraných dojnic.
2. Provedte mikrobiologický rozbor vzorků mlék.
3. Vyhodnoťte a porovnejte sledované parametry vzorků, diskutujte je s literaturou a vyvodte závěr.

Seznam doporučené literatury:

- [1] QUIGLEY, Lisa, Orla O'SULLIVAN, Catherine STANTON, Tom P. BERESFORD, R. Paul ROSS, Gerald F. FITZGERALD a Paul D. COTTER. The complex microbiota of raw milk. *FEMS Microbiology Reviews*. 2013, **37**(5), 664-698
- [2] OLIVEIRA, Gislene B. de, Luciana FAVARIN, Rosa H. LUCHESE a Douglas MCINTOSH. Psychrotrophic bacteria in milk: How much do we really know? *Brazilian Journal of Microbiology*. 2015, **46**(2), 313-321
- [3] GRIFFITHS, Mansel, ed. *Improving the safety and quality of milk*. Boca Raton: CRC Press, c2010. Woodhead Publishing series in food science, technology and nutrition. ISBN 978-1-84569-438-8
- [4] *Food microbiology: fundamentals and frontiers*. 2nd ed. Editor Michael P. DOYLE, editor Larry R. BEUCHAT, editor Thomas J. MONTVILLE. Washington: ASM Press, 2001. ISBN 1-55581-208-2

Vedoucí diplomové práce: **doc. Ing. Vendula Pachlová, Ph.D.**
Ústav technologie potravin

Datum zadání diplomové práce: **31. prosince 2021**

Termín odevzdání diplomové práce: **13. května 2022**

L.S.

prof. Ing. Roman Čermák, Ph.D.
děkan

Ing. Robert Gál, Ph.D.
ředitel ústavu

Ve Zlíně dne 18. února 2022

PROHLÁŠENÍ AUTORA DIPLOMOVÉ PRÁCE

Beru na vědomí, že:

- diplomová práce bude uložena v elektronické podobě v univerzitním informačním systému a dostupná k nahlédnutí;
- na moji diplomovou práci se plně vztahuje zákon č. 121/2000 Sb. o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon) ve znění pozdějších právních předpisů, zejm. § 35 odst. 3;
- podle § 60 odst. 1 autorského zákona má Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně právo na uzavření licenční smlouvy o užití školního díla v rozsahu § 12 odst. 4 autorského zákona;
- podle § 60 odst. 2 a 3 autorského zákona mohu užít své dílo – diplomovou práci nebo poskytnout licenci k jejímu využití jen s předchozím písemným souhlasem Univerzity Tomáše Bati ve Zlíně, která je oprávněna v takovém případě ode mne požadovat přiměřený příspěvek na úhradu nákladů, které byly Univerzitou Tomáše Bati ve Zlíně na vytvoření díla vynaloženy (až do jejich skutečné výše);
- pokud bylo k vypracování diplomové práce využito softwaru poskytnutého Univerzitou Tomáše Bati ve Zlíně nebo jinými subjekty pouze ke studijním a výzkumným účelům (tj. k nekomerčnímu využití), nelze výsledky diplomové práce využít ke komerčním účelům;
- pokud je výstupem diplomové práce jakýkoliv softwarový produkt, považují se za součást práce rovněž i zdrojové kódy, popř. soubory, ze kterých se projekt skládá. Neodevzdání této součásti může být důvodem k neobhájení práce.

Prohlašuji,

- že jsem diplomové práci pracoval samostatně a použitou literaturu jsem citoval. V případě publikace výsledků budu uveden jako spoluautor.
- že odevzdaná verze diplomové práce a verze elektronická nahraná do IS/STAG jsou obsahově totožné.

Ve Zlíně dne:

Jméno a příjmení studenta:

.....
podpis studenta

ABSTRAKT

Cílem diplomové práce bylo posoudit mikrobiologickou kvalitu syrového mléka vybraných dojnic z ekologického chovu. Teoretická část se zabývá mikrobiologií syrového mléka a popisuje zdroje mikroorganismů, možnosti snížení mikroorganismů v mléce a rozdíl mezi ekologickým a konvenčním zemědělstvím. Metody využívané v praktické části spočívaly v odběru vzorků od vybraných dojnic a stanovení vybraných skupin mikroorganismů. Odběr vzorků se prováděl každý měsíc a sledované období bylo od března do listopadu roku 2021. Dle výsledků bylo vyhodnoceno, že pastevní období má pozitivní vliv na hygienu získávání mléka. Pořadí laktace má značný vliv na mikrobiologii mléka, a to z důvodu vyšší míry zátěže na struky pomocí dojícího zařízení. Plemenná příslušnost dojnic se na mikrobiologii mléka spíše neprojevuje. Jediným rozdílem mezi holštýnskou a červenostrakatou krávou je v dojivosti. Červenostrakatá má masno-mléčnou užitkovost a holštýnská dojnice více mléčnou užitkovost.

Klíčová slova: mléko, mikrobiologie, mikroorganismy, mléčné výrobky, hygiena.

ABSTRACT

The aim of the diploma thesis was to assess the microbiological quality of raw milk from selected dairy cows from ecological breeding. The theoretical part of the thesis deals with the microbiology of raw milk and describes the source of microorganisms, possibilities of microorganism reduction in milk, and the difference between ecological and conventional agriculture. The methods used in the experimental part consisted of sample collecting from selected dairy cows and isolation of the microorganisms. Samples have been collected monthly and the reporting period ran from March to November 2021. On the basis of the results it has been determined that the grazing period has a positive effect on the hygiene of the milk production. The sequence of lactation has a significant effect on the milk microbiology due to the higher load on the teats by milking equipment. Breeding affiliation does not affect the milk microbiology. The only difference between Holstein and Red-spotted cows is in milk yield. Red-spotted cow has meat-milk yield, while the Holstein cow has a higher milk yield.

Keywords: milk, microbiology, microorganism, dairy products, bacteria, hygiene

OBSAH

ÚVOD	8
I TEORETICKÁ ČÁST	9
1 MIKROBIOLOGIE SYROVÉHO MLÉKA	10
1.1 ZDROJE MIKROORGANISMŮ V MLÉCE.....	12
1.2 MIKROBIÁLNÍ ZASTOUPENÍ MLÉKA.....	14
2 MOŽNOSTI SNÍŽENÍ POČTU MIKROORGANISMŮ V MLÉCE	19
2.1 FAKTORY OVLIVŇUJÍCÍ POČET MIKROORGANISMŮ V SYROVÉM MLÉCE PŘI DOJENÍ.....	19
2.2 VNĚJŠÍ FAKTORY OVLIVŇUJÍCÍ MIKROBIOLOGII MLÉKA.....	21
2.3 MOŽNOSTI SNÍŽENÍ MIKROORGANISMŮ U ZPRACOVATELE.....	22
2.3.1 ODBĚROVÁNÍ.....	22
2.3.2 BAKTOFUGACE.....	23
2.3.3 TEPelné ošetření.....	23
2.3.4 MEMBRÁNOVÁ FILTRACE.....	24
3 KONVENČNÍ A EKOLOGICKÉ ZEMĚDĚLSTVÍ	26
3.1 KONVENČNÍ (INTENZIVNÍ) ZEMĚDĚLSTVÍ.....	26
3.2 EKOLOGICKÉ ZEMĚDĚLSTVÍ.....	27
3.2.1 CHOVÁNÍ ZVÍŘAT NA EKOLOGICKÉ FARMĚ.....	31
3.2.2 PRODUKTY EKOLOGICKÉHO ZEMĚDĚLSTVÍ A ZNAČENÍ KOMODIT.....	33
3.2.3 EKOLOGICKÁ VÝROBA MLÉKA (BIOMLÉKA).....	34
3.2.4 ROZDÍLY V EKOLOGICKÉM A KONVENČNÍM CHOVU MLÉČNÝCH KRAV.....	35
II PRAKTICKÁ ČÁST	37
4 CÍLE PRÁCE	38
5 MATERIÁLY A METODIKA	39
5.1 POPIS SLEDOVANÝCH FAKTORŮ.....	39
5.2 METODIKA.....	40
5.2.1 ODBĚR VZORKŮ.....	40
5.2.2 PŘÍPRAVA VZORKŮ.....	41
5.2.3 POUŽITÉ METODY.....	44
6 VÝSLEDKY A DISKUZE	48
6.1.1 CELKOVÝ POČET MIKROORGANISMŮ.....	48
6.1.2 ANAEROBNÍ SPORULÁTY.....	51
6.1.3 PSYCHROTROFNÍ MIKROORGANISMY.....	54

6.1.4	<i>ENTEROBACTERIACEAE</i>	57
6.1.5	BAKTERIE MLÉČNÉHO KVAŠENÍ.....	60
7	ZÁVĚR	64
III	SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY	66
IV	SEZNAM OBRÁZKŮ	70
V	SEZNAM TABULEK	72

ÚVOD

Syrové mléko je příkladem prostředí, které obsahuje různorodou a komplexní mikrobiální populaci. Mléko ze zdravé mléčné žlázy není vždy zcela sterilní. Strukový kanál dojnice může obsahovat širokou škálu mikroorganismů, proto je důležité dodržovat technologický postup dojení. V primární mikroflóře se vyskytují zejména saprofytické bakterie a do sekundární mikroflóry se zahrnuje kontaminace mléka při dojení a během dalších procesů. Na dojárnách je nutné dodržovat dané hygienické postupy, jelikož jedině tak se docílí minimální mikrobiální kontaminace z prostředí. Mikrobiologická kvalita mléka je vždy kontrolována příslušnou akreditovanou laboratoří, která vyhodnocuje celkové počty mikroorganismů, počet somatických buněk, psychrotrofních mikroorganismů aj. Kontrolování a stanovování určitých skupin mikroorganismů je důležité z hlediska jakosti a kvality mléka, jelikož jakýkoliv zvýšený výskyt mikroorganismů značí znečištění, zhoršenou hygienu dojení, nebo onemocnění mléčné žlázy. Od mikrobiální kvality mléka se odvíjí jeho výkupní cena a zároveň zpracovatelnost v mlékárně. Aby si byl dodavatel jistý, že dodává do mlékárny syrové mléko o vhodné mikrobiální kvalitě, musí nastavit správnou hygienu dojení a tuto kontrolovat.

Práce na téma vliv vybraných faktorů na mikrobiologii mléka se zabývá sledováním faktorů, které by mohly mít vliv na mikrobiologii syrového mléka společně s odběrem vzorků od dojnic, jenž probíhal každý měsíc v rozmezí od března do listopadu roku 2021.

I. TEORETICKÁ ČÁST

1 MIKROBIOLOGIE SYROVÉHO MLÉKA

Syrové mléko je příkladem prostředí, které obsahuje různorodou a komplexní mikrobiální populaci. Mléko ze zdravé mléčné žlázy není vždy zcela sterilní. Vždy je v mléce obsažena primární mikroflóra, jenž do mléčné žlázy vnikne skrz strukový kanál, nebo přechází z krve dojnice. Strukový kanál dojnice může obsahovat širokou škálu mikroorganismů, proto je důležité dodržovat technologický postup dojení. Pro snížení počtu mikroorganismů a také pro kontrolu zdravotního stavu mléčné žlázy se musí první stříky mléka oddojit zvlášť. Tento proces zahrnuje odstříknutí každého struku do nádoby, kde se posuzuje, zda je mléko vhodné pro další zpracování, či nikoliv. ^[1]

Jak je psáno výše, syrové mléko obsahuje širokou škálu mikroorganismů. Mnoho těchto bakterií přispívá k přirozené fermentaci mléka. Jelikož se tato vlastnost jevila jako úspěšná, byly tyto mikroorganismy z mléka izolovány. Nyní jsou jejich účinky využívány nejen v mlékárenském průmyslu, ale také v mnoha dalších odvětvích potravinářství, kde se využívá procesu fermentace. ^[1]

Lactococcus je rod bakterií mléčného kvašení, které byly izolovány z rodu *Streptococcus*. Jsou známé jak homofermentativní bakterie mléčného kvašení, což znamená, že produkují pouze jediný produkt a tím je kyselina mléčná. Z rodu *Lactococcus* nejvíce dominuje v syrovém mléce druh *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* a *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris*. Tyto dva zmíněné druhy laktokoků jsou primárně známé jako startérová smetanová kultura a jsou přirozeně přítomné v syrovém mléce, ovšem kvůli pasteraci se pro výrobu sýrů musí do mléka přidávat. Jejich primární funkcí je okyselení, ale zároveň přeměňují aminokyseliny na chuťově výrazné sloučeniny (alkoholy, ketony, aldehydy). ^[1]

Lactobacillus je velmi rozmanitý rod bakterií mléčného kvašení a podle nejnovějších odhadů se skládá ze 174 druhů a 27 poddruhů. Laktobacily lze nalézt ve všech místech, kde jsou sacharidy, a to včetně rostlin, zvířat, siláže a syrového mléka. Podrobné studie laktobacilů vedly k použití kmenů pro průmyslové mlékárenské využití. Zejména jejich proteolytická aktivita a schopnost produkovat aromatické sloučeniny vede ke zvyšování nutriční hodnoty mléčných výrobků. Laktobacily, které jsou zvláště důležité v mlékárenském průmyslu, jsou *Lactobacillus helveticus*, *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* a *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *lactis*. ^[1]

Lactobacillus helveticus je termofilní mlékárenská kultura s řadou znaků, které jsou žádoucí pro výrobu sýrů. Tyto znaky zahrnují rychlou autolýzu, která má za následek uvolňování intracelulárních enzymů a snížení hořkosti. Má schopnost růst při relativně vysokých teplotách (až 55 °C). Tato kultura se používá pro výrobu švýcarských a italských sýrů typu emmentál, parmazán, pecorino a pařených sýrů. Zrajícím sýrů dodává oříškovou chuť a zabraňuje hořkosti. [1]

Lactobacillus delbrueckii subsp. *bulgaricus* je v důsledku jeho celosvětového použití v jogurtech jedna z nejdůležitějších kultur související s mlékárenstvím. Je fakultativně anaerobní a živí se chemoorganotrofně. Dokáže srážet mléko za 3-4 hodiny při 43–45 °C v celé hmotě najednou. Působí synergicky se *Streptococcus thermophilus*, který okyseluje prostředí a umožňuje jim tak rychlý růst. Genomika odhalila důležité faktory, které mohou hrát roli v interakci mezi *Lactococcus bulgaricus* a *Streptococcus thermophilus*. Zatímco *Lactococcus bulgaricus* kóduje úplnou sadu genů pro biosyntézu folátů, *Streptococcus thermophilus* produkuje p-aminobenzoát, který celou tuto dráhu zásobuje. Vytváří se požadované organoleptické vlastnosti finálního výrobku. [1]

Streptococcus je rod fakultativně anaerobních chemoorganotrofních bakterií, které jsou používány ve fermentovaných mléčných výrobcích. Optimální kultivační teplota pro streptokoky je 37-42 °C. Ačkoliv mnoho druhů streptokoků jsou patogenní, tak *Streptococcus thermophilus* je izolovaný právě kvůli jeho schopnosti fermentovat laktózu, je termofilní a široce používaný jako startérová kultura pro výrobu mléčných výrobků. Jeho hlavní význam je schopnost rychle přeměnit laktózu na laktát. Přináší rychlý pokles pH, tím vyrábí důležité metabolity (diacetyl, acetaldehyd, acetát a další). Společně s *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* vytváří jogurtovou kulturu. *Streptococcus thermophilus* byl detekován ve strukách dojených krav, v prostředí kravína a v dojících zařízeních. Mnoho kmenů *Streptococcus thermophilus* produkuje exopolysacharidy, které přispívají zejména k žádoucí viskózní struktuře s žádoucími reologickými vlastnostmi, jaké mají fermentované mléčné výrobky mít (zejména jogurt). V sýrech se používá samostatně, nebo v kombinaci s několika laktobacily, nebo mezofilní kulturou. Při výrobě jogurtu se ovšem používá výhradně s *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*. [1]

Do sekundární mikroflóry se zahrnuje kontaminace mléka při dojení a během dalších procesů (např. skladování mléka nebo kontaminující mikroflóra z prostředí jako je např. potrubí). Dalším důležitým faktorem přispívající k snížení mikroorganismů v mléce je

rádná hygiena vemene. V dnešní době je zavedený systém dezinfekčních přípravků, které při dodržení časového limitu efektivně snižují počet mikroorganismů. [2]

1.1 Zdroje mikroorganismů v mléce

V primární mikroflóře se vyskytují zejména saprofytické bakterie, jenž jsou mikrokoky, streptokoky, bakterie mléčného kvašení, enterokoky. *Micrococcus* je rod bakterií, které jsou součástí mikroflóry mléka. *Micrococcus* je grampozitivní bakterie, která se vyskytuje v širokém spektru prostředí (půda, voda, mléko). Tento rod bakterií zřídka způsobuje infekce, proto se nazývá saprotrofní nebo komenzální. [3]

Přes gastrointestinální trakt se mohou do vemene přenést i sporulující bakterie z nekvalitní siláže. Počet mikroorganismů v mléčné žláze zdravých dojnic je 10^2 CFU/ml. Pokud bylo indikováno onemocnění mléčné žlázy, s nejvyšší mírou pravděpodobnosti se v ní budou vyskytovat patogenní bakterie. Původcem onemocnění mohou být např. *Streptococcus agalactiae*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus uberis*, *Escherichia coli* a *Klebsiella*. [1]

Povrch struků může obsahovat vysokou diverzitu bakterií. Některé mikroorganismy, které byly detekované na povrchu struku (např. *Solobacterium*, *Clavibacter* a *Arcanobacterium* spp.) nebyly identifikovány v mléce tzn. že u zmíněných bakterií může dojít k přechodu do mléka, ale ostatní bakterie přítomny v mléce, je pohlí, a tak se nedají detekovat. Mikrobiální složení mléka není na každé farmě stejné, protože faktory ovlivňující mikrobiologii mléka jsou různé. Každá farma má totiž jiný materiál podestýlek, jiné dojící zařízení a jiné postupy dojení, které mohou kontaminovat povrch struku a tím potencionálně vstoupit do mléka. Největší zastoupení bakterií v prostředí farmy mají mikroorganismy rodu *Aerococcus*, *Streptococcus*, *Propionibacterium*, *Acinetobacter*, *Bacillus* a to na různých místech (strukové gummy, dojírna, seno, vzduch a prach). [1]

V mléce jsou přítomny i technologicky relevantní bakterie rodu *Lactococcus*, *Lactobacillus* a *Enterococcus*, *Leucobacter*, *Deinococcus* a *Paracoccus*. Podobně stejné množství dalších taxonů těchto bakterií bylo zjištěno v prostředí, ovšem nikoliv v mléce. Je pozoruhodné, že se na farmách provádí přísná hygienická ošetření, která vedou ke snížení mikrobiální kontaminace mléka, ale snižuje se i počet technologicky důležitých bakterií, které pak mohou negativně ovlivňovat výrobu sýru tradičním způsobem. Mallet a kolektiv [20] uvedli ve své studii, že se technologicky relevantní laktokoky (přítomny v syrovém mléce), snížily v porovnání s tím, jenž bylo zjištěno před 15 lety v syrovém mléce,

odebrané ze stejné oblasti. Tyto bakterie se zdají být zvláště citlivé na vývoj zemědělských postupů, protože ostatní bakterie jako jsou *Pseudomonas*, *Lactobacillus* (resp. obecně mléčné tyčinky) a kvasinky, se v obou studiích nijak zvláště nelišily. Na dojárnách je ovšem nutné dodržovat dané hygienické postupy, jelikož jedině tak se docílí minimální mikrobiální kontaminace z prostředí. K tomu všemu musí dodavatel mléka dodržovat požadavky a smluvní podmínky, na kterých závisí výkupní cena mléka odběratele. Zatímco je důležité zajistit kvalitu mléka hygienickými postupy, které jsou na farmách dané, dochází ve výsledku k negativnímu vlivu na chuť a vůni finálních výrobků, jelikož postupy, kterými se minimalizuje kontaminace mléka, omezují také počty technologicky významných mikroorganismů. Tyto nedostatky se pak v mlékárně musí kompenzovat pomocí doplňkových kmenů mikroorganismů a startérů. [1]

Sekundární mikroflóra, jak bylo zmíněno výše, pochází z kontaminující mikroflóry. Do této kategorie spadá technologie získávání mléka, tedy dodržování hygienických zásad při přípravě vemene k dojení. Příčinou kontaminace mléka mohou být povrch vemene, znečištěné dojící zařízení, nádoby a potrubí, chladicí zařízení, krmivo, stelivo a voda. V nádobách a potrubí mohou být zbytky mléka po špatně provedené sanitaci a toto zbytkové mléko je velice výživná půda pro mikroorganismy. V krmivu se mohou objevit klostridie, jenž se do krmiva dostávají z hlíny. Častou kontaminující mikroflórou jsou koliformní, mezofilní a psychrotrofní bakterie. [1][4]

Laboratorní vyšetření mléka zkoumají zejména tyto parametry:

- Celkový počet mikroorganismů, kam se zahrnují grampozitivní nesporulující bakterie (*Micrococcus*, *Staphylococcus*, *Enterococcus*, *Lactococcus*), grampozitivní sporulující bakterie (*Bacillus*, *Clostridium*), gramnegativní tyčinky (*Pseudomonas*, *Escherichia*, *Enterobacter*).
- Termorezistentní mikroorganismy, které se vyskytují v mléce i po tepelném ošetření (*Micrococcus*, *Enterococcus*).
- Psychrotrofní mikroorganismy se do mléka dostávají z krmiv, kontaminované vody a nedostatečnou sanitací. Jsou termolabilní, což znamená, že zahynou při pasteuraci, ale mohou být součástí mléka a finálních produktů z důvodu následné kontaminace (*Pseudomonas*, *Acinetobacter*, *Enterobacter*).

- Enterobakterie a koliformní bakterie jsou indikátorem fekálního znečištění a souvisí s nedostatečnou hygienou vemene. Tyto bakterie nepřežívají pasterační zákroky, ale problém nastává při výrobě sýrů s nízkodohřívanou sýřeninou. [5]

1.2 Mikrobiální zastoupení mléka

Gramnegativní psychrotrofní bakterie

Psychrotrofní bakterie jsou termolabilní mikroorganismy, které jsou schopny růstu a metabolických projevů i při nízkých teplotách (3-7 °C). Při této teplotě je syrové mléko uchováváno v prostorách nazývaných mléčnice a následně přepravováno ke zpracovateli. Psychrotrofní bakterie lze devitalizovat pomocí pasterace. Do této skupiny řadíme rod *Pseudomonas*, *Flavobacterium*, *Enterobacteriaceae* a další rody mikroorganismů. Syrové mléko od zdravé krávy nemusí mít tak vysokou mikrobiální zátěž, ale může se zvýšit, pokud není dodržena teplota skladování. Už jen z tohoto důvodu by se syrové mléko mělo ihned po nadojení zchladit, a to na teplotu 4-7 °C, aby se zabránilo rychlému růstu mikroorganismů.

Zástupci rodu *Pseudomonas* spp. jsou významné mikroorganismy z hlediska jejich rychlého růstu v chlazeném kravském syrovém mléce a vyznačují se tvorbou tepelně stabilních enzymů (proteázy a lipázy). Některé enzymy mohou přežít pasteraci i UHT záhřev. Lipázy jsou spojovány s degradací mléčného tuku, jenž má spojitost s vývojem žluklé příchuti. Proteázy degradují kasein a tím dochází k šedavé barvě mléka a hořké chuti.

Čeď *Enterobacteriaceae* představují přibližně 5-33 % psychrotrofní mikroflóry syrového mléka. Optimální teplota růstu (<30 °C), ale dokážou se množit i při teplotě chlazení mléka. Do této čeledi patří zástupci rodu *Escherichia*, *Enterobacter*, *Klebsiella*, *Proteus* a *Serratia*. Koliformní bakterie jsou indikátorem znečištění syrového mléka zejména kontaminací při získávání mléka. Jelikož jsou indikátorem, poskytují tak informace o hygieně provozu, tepelném zpracování a skladování mléka. Koliformní bakterie jsou devitalizovány pomocí pasterace, pokud se jejich přítomnost objeví v tepelně ošetřeném mléce, pak se s nejvyšší mírou pravděpodobnosti jedná o postpasterační kontaminaci. Dle ČSN 57 0529 je nejvyšší přípustná hranice pro syrové mléko $\leq 50\,000$ KTJ/ml. (Norma

ovšem již není platná, byla zrušena bez náhrady, avšak plynou z ní pracovní smluvní vztahy a stále se dle ní dodavatel mléka řídí.)^[6]

Termorezistentní bakterie

Do této kategorie se řadí kromě sporotvorných také nesporetné bakterie. ČSN 570529 udává, že nejvyšší přípustná hranice pro syrové mléko je ≤ 2000 KTJ/ml. Nejčastější zástupci termorezistentních bakterií jsou *Micrococcus*, *Microbacterium* a *Enterococcus*. Termorezistentní bakterie zpravidla přežijí pasterační proces. Mimo syrové mléko se tyto bakterie mohou vyskytovat i ve finálních výrobcích. Termorezistentní bakterie způsobují kažení mléka a to dokonce i u nedostatečně ošetřeného UHT mléka, kdy tvoří nevyhovující vady v podobě nafouknutí tetrapackových obalů.^[6]

Sporotvorné bakterie

Sporotvorné bakterie rodu *Clostridium* jsou v syrovém mléce přítomny pouze v malém množství. Mezi významné patogeny patří *Clostridium perfringens* a *Clostridium botulinum*. Přestože jsou spory rodu *Clostridium* běžné i v pasterovaném mléce, nejsou schopny germinace (neobsahuje anaerobní prostředí). Spory jsou tepelně odolné a mohou být izolovány taktéž z pasterovaného mléka. *Clostridium perfringens* ovšem není schopna klíčit při teplotních podmínkách, za jakých se mléko skladuje. Mimo syrové a pasterované mléko se rod *Clostridium* vyskytuje hojně v přírodě, půdě, vodě, prachu a hnoji. Nejčastěji je kontaminována potravina živočišného původu (maso a masné výrobky). Tato bakterie vytváří spory, které produkují toxin. Prevence proti onemocnění se doporučuje konzumovat pokrm ihned po uvaření, a pokud je nutné jídlo uskladnit, tak jej co nejrychleji ochladit na teplotu pod 7 °C.^{[6][7]}

Bacillus cereus tvoří tepelně odolné spory, roste při teplotě okolo 30-37 °C, ale dokáže růst i při teplotách 4-5 °C, takže pokud se dostane při dojení kontaminací do syrového mléka, může růst i ve skladovaném mléce. Tento zástupce produkuje proteolytické enzymy a tak způsobuje sladké srážení mléka. Vzhledem k jeho produkci termorezistentních spor se podílí na kažení pasterovaných výrobků (způsobuje i hořknutí smetany). *Bacillus cereus* se přirozeně vyskytuje v půdě a vodě, proto je považován za potencionální kontaminant potravin rostlinného i živočišného původu. Do potravin se dostane především kontaminující surovinou, kde dokáže pomocí odolných spor přežít i běžné tepelné ošetření.

Patogenní mikroorganismy

Syrové mléko je výživným médiem pro růst různých mikroorganismů, zejména bakteriálních patogenů, jako je *Bacillus cereus*, *Listeria monocytogenes*, *Salmonella* spp., *Streptococcus*, *Staphylococcus*, *Campylobacter* spp., *Mycobacterium tuberculosis*, *Mycobacterium paratuberculosis* a mnoho dalších. Tyto bakterie jsou nebezpečné pro člověka, přenáší se mlékem a příkladem onemocnění je např. tuberkulóza, brucelóza, gastroenteritida nebo také i klíšťová encefalitida. [8]

Rod *Salmonella* patří do čeledi *Enterobacteriaceae*, jsou fakultativně anaerobní nesporulující gramnegativní pohyblivé tyčinky a je původcem gastroenteritidy a tyfoidní horečky. Nejčastější příčinou výskytu salmonely v mléce bývá sekundární kontaminace mléka během dojení, po nadojení nebo v průběhu zpracování mléka. Rezervoárem salmonel v prvovýrobě jsou hospodářská zvířata a ptáci. V ČR z hlediska možnosti onemocnění salmonelózou představuje mléko minimální riziko. Salmonelóza mléčné žlázy a celková sepse je totiž vzácná. Muselo by se jednat o sekundární kontaminaci mléka v průběhu zpracování, ale vzhledem k pasteraci a inaktivaci životních funkcí salmonely je toto riziko minimální. [9] *Salmonella* patří mezi nejvýznamnější patogenní mikroorganismy, které způsobují alimentární infekci. Salmonely jsou většinou citlivé k antimikrobiálním a desinfekčním látkám. V potravinářském průmyslu je známá svou vlastností přilnout k povrchu a vytvářet biofilm. Optimální teplota růstu salmonel je 37 °C a množit se přestávají při teplotě 5 °C. [10]

Listeria monocytogenes je pro svůj psychrotrofní charakter významným patogenním kontaminantem v mlékárenském průmyslu. *Listeria monocytogenes* roste totiž v širokém teplotním rozmezí (1-45 °C) a tak může přežívat dlouhodobě v nepříznivých podmínkách, rozmnožovat se v chladírenských teplotách a přežívá i mrazírenské teploty. Běžný pasterační proces nepřežívá, inhibují ji také bakterie mléčného kvašení. *Listeria monocytogenes* se mimo jiné nachází v půdě a vodě. Kontaminace potravin je zpravidla z půdy, nebo hnojiva použitého pro hnojení půdy. Nositelkou bakterie může být i zvíře, které nejeví známky nemoci, ale kontaminuje potraviny živočišného původu (maso, mléčné výrobky). [6][9]

Escherichia coli je podmíněně patogenní bakterie. Je relativně dlouho vitální, a proto se používá s jinými koliformními bakteriemi jako indikátor fekálního znečištění a špatné úrovně hygieny a sanitace. Rezervoárem je skot, především mladá zvířata, latentní nosiči i

nemocná zvířata kontaminují prostředí, v němž se *Escherichia coli* dále saprofytický pomnožuje. Z tohoto zdroje se pak infikují další zvířata a ke kontaminaci mléka dochází při dojení, a to hnojem znečištěných vemen, nebo pak přímým vylučováním bakterií do mléka z mastitid způsobovaných *E. coli*. Spolehlivou ochranou před *E. coli* je správné dodržování hygienických pravidel při dojení. V momentě samotného nasazování dojícího zařízení na struky je nutné dbát zvýšené pozornosti, zda dojnice nepohybuje končetinami směrem ke strukům. Nastala by totiž možnost otěru nečistot z končetin na struk a tím by mohlo dojít ke kontaminaci. V neposlední řadě je důležité kontrolovat, aby při dojení nedošlo k nasátí výkalů vlivem pohybu končetin dojené krávy.

Příklad znečištěného vemene je na Obrázku č. 1. Znečištěné vemeno hnojem se před dojením musí důkladně umýt a osušit, aby nedošlo vlivem gravitační síly k nasávání nečistot do syrového mléka. ^{[6][9]}

Obrázek č. 1: Znečištěné vemeno hnojem



Zdroj: Vlastní fotografie.

Na Obrázku č. 2 je znázorněno očištěné vemeno, na které je již možné nasadit dojící zařízení. Důkladná hygiena vemene je důležitá, předchází se tak riziku kontaminace nejen bakterií druhu *E. coli*, ale také jiných patogenních mikroorganismů.

Obrázek č. 2: Očištěné vemeno, připravené k podojení.



Zdroj: Vlastní fotografie.

Pozornost se musí upřít i na mikrobiologickou jakost vody, a to nejen v prvovýrobě, ale také ve výrobním závodě. Při správném tepelném ošetření syrového mléka jsou přítomné *E. coli* účinně inaktivovány. ^[9] Optimální teplota množení *E. coli* je 37 °C. Její další výskyt je ve vlhkém prostředí (pitná, odpadní voda a výkaly). Nepřežijí pasterační teploty, avšak při skladování potravin v chlazeném či mrazeném stavu přežívá. *Escherichia coli* se nachází v syrovém či nedostatečně uvařeném mase, nepasterovaném mléce a mléčných výrobcích, syrové zelenině apod. ^{[7][9]}

2 MOŽNOSTI SNÍŽENÍ POČTU MIKROORGANISMŮ V MLÉCE

Uvnitř vemene jsou obsaženy bakterie, které do něj pronikají z prostředí stáje skrz strukové kanálky. Některé mikroorganismy ve vemeni odumřou, avšak určité množství si uchová svou vegetativní formu. Počet mikroorganismů ve vemeni je závislý na zdravotním stavu vemene dojnice. Pokud je mléčná žláza zdravá, je počet mikroorganismů v primární mikroflóře zanedbatelný. Ihned po nadojení mléka je nutné zabránit rozmnožování bakterií. První odstříky mléka před dojením je nutno zachytit do nádoby pro vizuální posouzení charakteru mléčného sekretu. [6]

2.1 Faktory ovlivňující počet mikroorganismů v syrovém mléce při dojení

Hygiena dojení je faktor, který značně ovlivňuje mikrobiologii mléka. Při strojním dojení se musí věnovat pozornost celé technologii, která musí splňovat jasné požadavky, a to jak funkčních, tak hygienických. Nezbytná je i péče a kontrola dojící techniky, jenž spočívá v údržbě, čištění a výměně opotřebovaných součástí. Nesprávná údržba, čištění a seřízení mohou poranit mléčnou žlázu a taktéž dochází k aktivnímu a pasivnímu přenosu mikroorganismů způsobující mastitidu. Dojící zařízení působí jako pasivní přenašeč mikroorganismů. Zdrojem kontaminace jsou obtížně čistitelné části a gumové či plastové součástky (hadice, strukové gumy). I nepatrné zbytky mléka mohou být výživnou půdou pro rozmnožování bakterií. Proto je nutné dbát pozornosti k účinnosti sanitace proplachovaného zařízení. [6]

Prostory dojíren musí být udržovány čisté a jejich uspořádání, provedení a konstrukce musí umožňovat odpovídající údržbu, čištění a dezinfekci. Všechny povrchy, se kterými přichází mléko do styku musí být z hladkého, omyvatelného a netoxického materiálu, který je odolný proti korozi, jsou snadno čistitelné a umožňují tak pravidelnou sanitaci po každém použití. Po dezinfekci musí být tyto povrchy umyty pitnou vodou. Dojiči, kteří manipulují se syrovým mlékem, musí mít zdravotní průkaz a podrobují se pravidelným zdravotním prohlídkám a v případě zhoršení zdravotního stavu s mlékem nesmí zacházet. V blízkosti místa dojení musí být přístup k omytí rukou. [6]

Riziko sekundární kontaminace mléka stoupá se stupněm znečištění těla dojnice. Kůže a povrch mléčné žlázy je osídlen bakteriemi, tudíž je nutné dbát na důkladnou toaletu

vemene. Součástí toalety mléčné žlázy je dezinfekce struku před dojením a po dojení. Přípravky na dezinfekci struků by měly splňovat zejména zabránění pronikání bakterií do mléčné žlázy, kde by tyto bakterie mohly způsobit mastitidu. Udržet nebo zlepšit (hydratovat) pokožku struku, rezidua nesmí být nebezpečná a nesmí se dostávat do mléka. Tyto přípravky jsou založeny na bázi jódu, chloru a alkoholu. ^[6]

Ruce dojiče jsou možným zdrojem kontaminace, jelikož na povrchu kůže a za nehty je obsaženo velké množství mikroorganismů. Na kůži člověka se vyskytuje zejména *Staphylococcus aureus*, který je původcem mastitid. Je nutné, aby si dojič důkladně omýval ruce a pracoval v rukavicích, jelikož tím se zásadně snižuje riziko bakteriální kontaminace. ^[23]

Chlévská mrva a podestýlka je dalším zdrojem kontaminace, jelikož se bakterie z podestýlky dostávají na povrch vemene a odtud do mléčné žlázy. Důležitým opatřením je pravidelné čištění lehacích ploch. Lehací plochy jsou různé a každá stáj je má zařízené jinak. V ekologickém zemědělství se dbá na podestýlání lehacích ploch, tzv. „postýlek“ jedině slámou, jak je možné vidět na Obrázku č. 3. V konvenčním zemědělství, zejména v pobytu dobytka na roštích se nezastýlá slámou ani separátem, většina roštového ustájení má pro dobytek zařízené lehací plochy z matrací, které jsou napuštěny vodou. Tyto matrace se obvykle čistí pouhým seškrábáním nečistot a výkalů. V postýlkách, kde se zastýlá slámou je důležité udržovat pod vemeny čisto, sucho, a tak se každý den vyhazuje chlévská mrva z postýlek na chodbu, kde je pak spolu s dalším hnojem odklizená z chléva pryč. ^{[6][23]}

Obrázek č. 3: Lehací plochy pro odpočinek dojnic, tzv. „postýlky“.



Zdroj: Vlastní fotografie.

2.2 Vnější faktory ovlivňující mikrobiologii mléka

Jakost mléka je v širším pojetí nejen o chemickém složení (např. obsah tuku, bílkovin, laktózy a minerálních látek), ale hlavně také o mikrobiologické kvalitě (např. celkový počet mikroorganismů, počet somatických buněk, rezidua inhibičních látek) zajišťující zdravotní nezávadnost. Mléko a jeho složení je ovlivněno řadou faktorů, mezi které jsou zahrnuty druh zvířete, plemeno a průběh laktace. Na produkci mléka každé dojnice působí i faktory, které jsou méně známe což je např. úroveň odchovu jalovic, věk při prvním otelení, výživa, úroveň reprodukce, doba stání na sucho, pořadí laktace a zdraví dojnice. [11]

Dalším faktorem ovlivňující mikrobiologickou kvalitu mléka je roční období. V zimních měsících jsou složky v mléce stabilnější, naopak v létě (od května do října) se zvyšuje celkový počet mikroorganismů a počet somatických buněk. V ekologickém zemědělství je výrazné zvýšení celkového počtu mikroorganismů v letních měsících, a to zejména z toho důvodu, že dojnice chodí na pastviny. Naopak v zimních měsících mají stálou krmnou dávku bez čerstvého travnatého příkrmu, a tak jsou složky v mléce stabilnější. [12]

Jakékoliv narušení zdravotního stavu zvířete má nepříznivý dopad na celkovou výši mléčné produkce a snížení obsahu tuku a bílkovin. Může ovšem znamenat i zvýšení celkového počtu mikroorganismů nebo počtu somatických buněk v mléce. Vyšší počet těchto faktorů má pak za následek zpeněžování mléka a projeví se i obtížnou zpracovatelností mléka. [24]

Výživa a krmení má značný vliv na tvorbu mléka a složek v něm obsažených. Základem krmné dávky pro přežvýkavce jsou objemná krmiva čerstvá, konzervovaná, nebo sušená. Nezbytnou součástí krmné dávky je minerální krmná směs, které se dojnicím podávají ve směsi, ve formě minerálního lizu, nebo v kombinaci obou preparátů současně. Nedostatky ve výživě se projeví zhoršením zdravotního stavu, poruchou reprodukce, sníženou produkcí mléka zároveň s poruchou tvorby složek mléka. Pokud se u rozborů mléka objeví zvýšený počet somatických buněk, musí se zkontrolovat obsah mykotoxinů v konzervovaném objemovém krmivu. Mykotoxiny se v senáži a siláži objevují zejména v bocích silážní jámy, kde se špatně zakrývá krmivo plachtou. Do takto nedostatečně

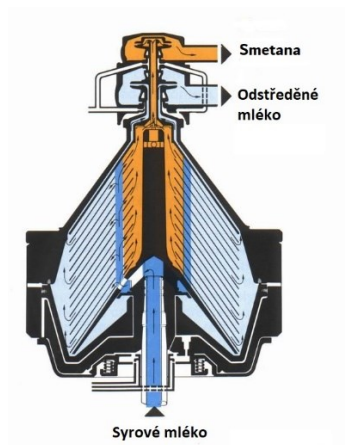
zakrytého krmení vlivem ročního období zatéká, poté vznikne vlhko a v souvislosti se vzduchem pak prorůstá krmivem plíseň. [12]

2.3 Možnosti snížení mikroorganismů u zpracovatele

2.3.1 Odstředování

V prvovýrobě se na dojárnách vkládají mléčné filtry do potrubí, aby případné nečistoty, které mohou dojíči při nasazování strukových gum nasát, nezneškodily mléko. Další čištění a filtrování probíhá již v mlékárně. Při přejímce mléka od zemědělce se provádí v mlékárně další čištění, které probíhá pomocí filtrů a dále pak na odstředivkách. Odstředování je jedním ze základních procesů používaných v mlékárenském průmyslu. Tento proces pracuje na principu odstředění, na základě rozdílné měrné hmotnosti částic dispergovaných v kapalině a spojité fázi emulze. Hnací silou jsou otáčky odstředivky, které dosahují až 8000 otáček za minutu. Separace tuku a odstředěného mléka je spojena se současným čištěním mléka od mechanických nečistot a zároveň od mikroorganismů a buněčných částic. Odstředivka je v mlékárně situována za první regenerační sekci pastéru, kde se mléko lehce předeheje, protože optimální teplota pro oddělení tuku od kalů je mezi 40 a 50 °C. Na odstředivce se odstředěné mléko soustřeďuje blízko stěny bubnu a lehčí tuková složka mléka (smetana) je vytlačována směrem do středu (k ose otáčení). Nečistoty, mikroorganismy a buněčné částice, které jsou těžší, jsou odstředivou silou vyneseny na stěnu bubnu. Na Obrázku č. 4 je zobrazeno schéma odstředivky doplněné o průběh procesu odstředování. [6]

Obrázek č. 4: Schéma odstředivky a průběh odstředování.



Zdroj: Hofman, Základy stavby procesních zařízení, FS ČVUT. Upraveno.

2.3.2 Baktofugace

Dalším způsobem odstraňování bakterií z mléka je baktofugace. Tento proces probíhá v baktofugách a proces je založen na principu odstranění bakterií z mléka pomocí odstředivé síly, která je mnohem silnější než u odstředivek, která byla popsána výše. Mléko se přehřeje na baktofugační teplotu (60-75 °C), těžší komponenty mléka (bakterie) jsou hnány odstředivou silou k obvodu bubnu, poté do sběrače a do odlučovače. Talíře v bubnu zařízení jsou bez otvorů, mikrobiologické čištění a rychlost dělení jsou ovlivněny rozdílnou měrnou hmotností a velikostí bakterií. Účinek baktofugace pro sporotvorné bakterie činí 90-95 %. Baktofugace tímto tedy nemůže nahradit pasteraci, protože mléko nemusí být nutně zbaveno všech patogenních mikroorganismů. [6]

2.3.3 Tepelné ošetření

Tepelné ošetření mléka v mlékárně následuje metodou pasterace nebo ultratepelným záhřevem. Smyslem tohoto ošetření je především inaktivace nežádoucích mikroorganismů, tím zajištění zdravotní nezávadnosti mléka a prodloužení trvanlivosti.

Pasterace dlouhodobá je méně častá a používá se ve farmářské výrobě a domácí produkci. Dle Nařízení Evropského parlamentu a Rady (ES) č. 853/2004 ve znění Nařízení Komise (ES) č. 1662/2006 se pasterizace dosahuje tímto ošetřením:

- vysokou teplotou po krátkou dobu (nejméně 72 °C po dobu 15 sekund),
- nízkou teplotou po dlouhou dobu (nejméně 63 °C po dobu 30 minut) nebo
- jakoukoli jinou kombinací času a teploty vedoucí k rovnocennému účinku. [6][13]

Pasterace vysoká se používá zejména pro výrobu konzumních mlék, zakysaných mléčných výrobků a dezertů. Probíhá při teplotách 85-95 °C po dobu několika sekund. Velmi důležitým krokem po pasteraci je zchlazení mléka na vhodnou skladovací teplotu. [6]

Ošetření velmi vysokou teplotou (UHT) se dosahuje ošetřením zahrnujícím souvislý přítok tepla za vysoké teploty po krátkou dobu (nejméně 135 °C v kombinaci s přiměřenou dobou výdrže). Při této metodě dochází k úplné inaktivaci všech přítomných mikroorganismů (vegetativní formy včetně spor) a většiny enzymů. Trvanlivé mléko pak lze uchovávat při pokojových teplotách. [6][13]

2.3.4 Membránová filtrace

Membránová filtrace je tlakem řízený separační proces. Složky mléka se rozdělují membránou na permeát a retentát. Permeát obsahuje kromě vody složky, které prošly skrz membránu, zatímco retentát obsahuje složky, které byly membránou zadrženy. Tento postup je čistě mechanický a existují čtyři základní typy membránových filtrací, které jsou znázorněny na Obrázku č. 5. [25]

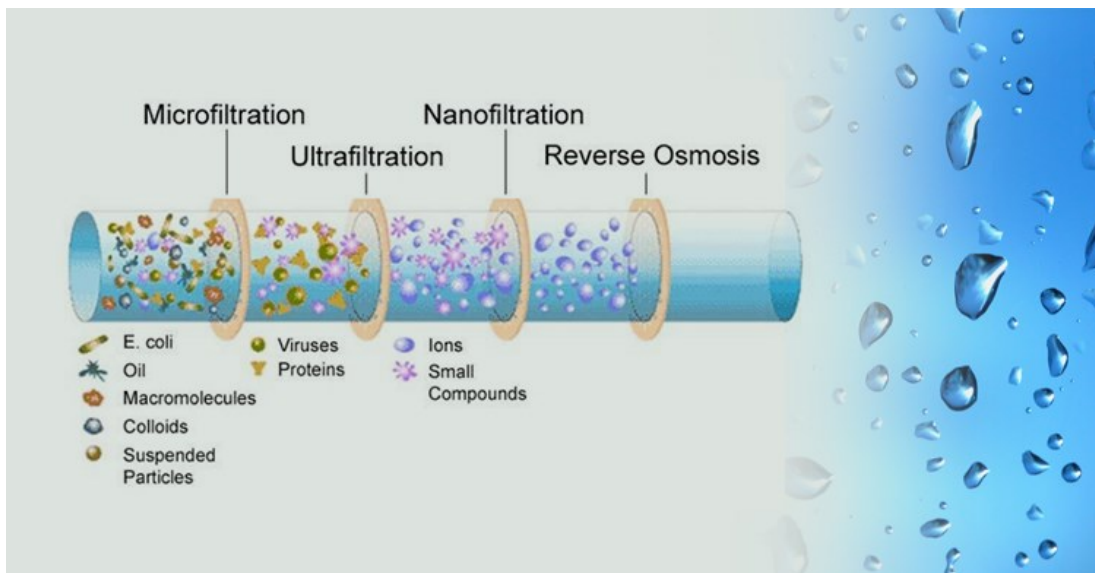
Při mikrofiltraci se využívají více otevřené membrány. Používá se hlavně pro frakcionaci proteinů a pro čištění a odstraňování bakterií, bez nutnosti záhřevu. Během mikrofiltrace se z mléka fyzicky odstraní bakterie a spory a tím se prodlužuje trvanlivost mléka oproti klasickému ošetření pasterizací. Nedochozí k senzorickým změnám mléka, ale nedochází ani k inaktivaci enzymů. [25]

Ultrafiltrace mléka se používá k výrobě mléčných bílkovin, nebo k separaci koagulátu při výrobě tvarohu. Použití ultrafiltračních membrán s různou velikostí pórů v kombinaci s dalšími metodami umožňuje také izolaci jednotlivých bílkovinných frakcí mléka. Tento permeát lze používat k výrobě laktózy a minerálních látek. Je to koncentrační a frakcionační proces při které se používají membrány umožňující prostup molekul o molekulové hmotnosti mezi 1000 a 200 000. [25]

Při nanofiltraci jsou využívány otevřené membrány, jimiž prochází více anorganických solí, nebílkovinných dusíkatých látek, organických kyselin a laktóza. Používá se k zahuštění mléka nebo syrovátky před přepravou nebo dalším zpracováním. Touto filtrací se odstraní z mléka i většina jednomocných iontů (Na^+ , K^+ , Cl^-). [25]

Reverzní osmóza je silná metoda, propustí totiž pouze vodu, a kromě vody prochází pouze velmi malé množství nízkomolekulárních látek, což jsou anorganické soli, dusíkaté látky a organické kyseliny. Membrány mohou být v různých tvarech a uspořádáních, avšak v mlékárenském průmyslu se nejvíce využívají deskové membrány v rámu, membrány spirálově vinuté a trubkové. [6][25]

Obrázek č. 5: Ukázka druhů filtrací.



Zdroj: Janštová, Hygiena produkce mléka.

3 KONVENČNÍ A EKOLOGICKÉ ZEMĚDĚLSTVÍ

Zemědělství je tradiční odvětví národního hospodářství a je tvořeno dvěma odvětvími, a to rostlinnou produkcí a zemědělskou výrobou. Rostlinná produkce se zabývá pěstováním kulturních rostlin a živočišná výroba se zabývá chovem hospodářských zvířat. Obě tyto odvětví spolu úzce souvisí ve vztahu zásobování živočišnou produkcí rostlinnými produkty. [26]

3.1 Konvenční (intenzivní) zemědělství

Je založeno na vyšší intenzitě hospodaření s použitím vyšších energetických a materiálových vstupů pro dosažení nejvyšší produkce. Pojem konvenční zemědělství je rozšířený název pro hospodaření, které se soustředí na nejvyšší možnou produkci, tedy nejvyšší možný ekonomický výnos. [26]

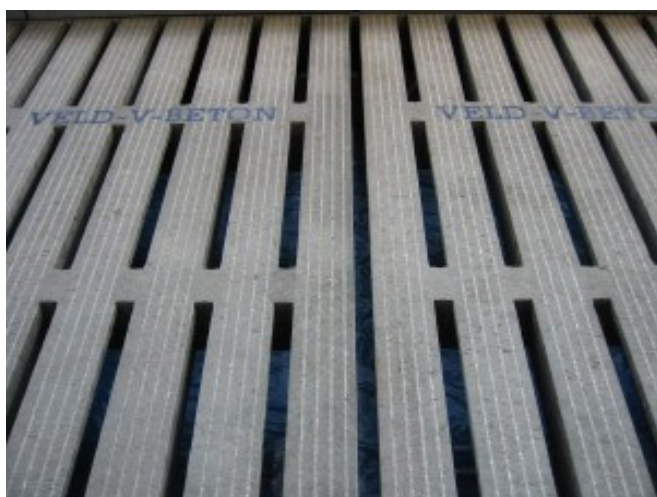
V rostlinné produkci se dosahuje maximálního výnosu pomocí výsadby monokulturními plodinami na velkých plochách. Tento proces sice snižuje náklady, zároveň však s sebou nese riziko v podobě napadení plodin škůdci a tím potřebu častého využívání biocidů. Intenzivním využívání biocidů se ohrožuje biodiverzita a dochází tak k rychlému vyčerpávání půdy, nebo omezení potravy pro další živočišné druhy. V konvenčním zemědělství se hojně pěstují geneticky modifikované organismy (GMO), jenž zajišťují větší výnos a hlavně odolnost vůči negativním faktorům. V konvenčním zemědělství se využívají nejrůznější syntetická hnojiva, chemické látky proti škůdcům a využívá se v poměrně velkém množství geneticky modifikované rostliny (GMO). Geneticky modifikované organismy musí projít přísnými bezpečnostními kontrolami a zároveň schvalovacím řízením v kterém jsou posuzována rizika. Problematika geneticky modifikovaných organismů je řízena zákonem 78/2004 Sb. o nakládání s geneticky modifikovanými organismy a genetickými produkty. Regulace GMO se vyjadřuje dvěma základními přístupy, tj. substantial equivalence (USA, Kanada, Japonsko) a case-by-case hodnocení (Evropská unie, Brazílie, Čína). Substantial equivalence je princip, dle kterého může být hodnocena bezpečnost nové potraviny srovnáním s podobnou potravinou, jejíž bezpečnost již byla prokázána. Case-by-case systém v Evropské unii je, že každý geneticky modifikovaný organismus a geneticky modifikovaná potravina (plodina) se považuje za novou potravinu, takže jsou jednotlivě posuzovány. Primárním posuzovatelem je European Food Safety Authority (EFSA), zpráva je předána Evropské komisi a ta vytvoří návrh,

který je diskutován Radou ministrů zemědělství, jenž mohou (ale také nemusí) dospět k rozhodnutí a dále se pak rozhoduje Evropská komise. Pokud se Rada ministrů zemědělství rozhodne k návrhu kladně, členské státy se mohou rozhodnout konkrétní variety zakázat, pokud dokážou shledat dostatečné důvody. [27]

V živočišné výrobě je možné používat hormonální látky pro synchronizaci říje, nebo stimulatory růstu. Tyto látky celkově zvyšují výnosnost, avšak jejich využíváním se potlačuje přirozenost zvířat jako takových. Intenzivní zemědělství nebere ohledy na přírodní ráz krajiny či na její ochranu, soustředí se pouze na co nejvyšší ekonomický výnos. Důsledkem je mimo jiné zhoršování životního prostředí, devastování krajiny a eroze půdy. [27] [28]

Zvířata, která jsou chována v rámci konvenčního zemědělství jsou povětšinou ustájena v objektech bez možnosti kontaktu s přírodou. Pro skot je využíván hlavně roštový způsob ustájení, jsou krmena průmyslovými krmivy a speciálně vyráběnými směsmi. Roštový způsob ustájení je zobrazen na Obrázku č. 6. V konvenčním hospodářství je snaha o minimalizaci nákladů spojených s produkcí. Soustředí se na největší zisk a co nejmenší časovou a ekonomickou zátěž. [29]

Obrázek č. 6: Roštové ustájení skotu v konvenčním zemědělství.



Zdroj: Zootechnika.cz, Pohybové chodby – skot.

3.2 Ekologické zemědělství

Je založeno na důrazném opatření, jenž vede k chránění půdy a přírody. Zajišťuje ohleduplné zacházení se zvířaty, jednoznačně zakazuje umělá hnojiva, pesticidy, umělé

chemické látky a nabízí tím možnost, jak omezit nebezpečné látky v potravinách. Je schopno trvale zajistit dostatečné výnosy i v období nepříznivých změn. Poskytuje řadu významných ekosystémových služeb, jako například zvyšování retence vody v krajině, či snižování nákladů na čištění vod, neboť nezpůsobuje zátěž životnímu prostředí agrochemickými látkami. Tímto způsobem a přístupem zajišťuje chovaným zvířatům životní podmínky, odpovídající co nejvíce jejich přirozeným potřebám. Výsledkem takového hospodaření je produkce bio potravin bez reziduí agrochemických látek, hormonů či léčiv. Na ekologických farmách jsou vítáni biologičtí predátoři, jako jsou ptáci, kočky a brouci živící se škodlivým hmyzem. Ekologické zemědělství má pevně ukotvený systém s přísně nastavenými a kontrolovanými pravidly, jenž dozoruje Ministerstvo zemědělství. [15]

Ekologický způsob chovu dojníc produkující biomléko vyžaduje větší nároky na péči a v porovnání s konvenčním chovem dojníc jsou ekologická stáda obvykle menší. Konvenční dojnice mají obvykle necelé 3 laktace za život, ale v ekologickém chovu se dosahuje zpravidla dvojnásobku počtu laktací. Vysoká brakace dojníc v konvenčním chovu (poruchy plodnosti, poruchy pohyblivého aparátu a metabolická onemocnění) je důsledkem stresu, vysokých požadavků na doživost a tímto zatížením zvířat. [30]

Zásady a cíle ekologického zemědělství:

Zákon č. 242/2000 Sb. o ekologickém zemědělství zpřísňuje a rozšiřuje podmínky pro chov zvířat v ekologickém zemědělství oproti konvenčnímu zemědělství hlavně v oblasti welfare. V konvenčním zemědělství jsou většinou opomíjeny sociální potřeby zvířat, potřeby přirozeného pohybu a přirozeného režimu dne. V ekologickém zemědělství se dbá právě na welfare zvířat, tzn. pohodlný odpočinek zvířete. Existují základy welfare, jenž zní pět a jedna svoboda:

1. Svoboda od hladu a žízně

Tato zásada v praxi obnáší, že zvíře musí mít neustále k dispozici zdroj nezamrzající vody a mít k dispozici kvalitní krmení, ke kterému se snadno dostane. Krmná dávka skotu musí být tvořena alespoň z 60 % objemovými krmivy, zbytek krmné dávky je obsažen v jaderných krmivech a senem či slámou pro správnou rotaci bachoru.

2. Svoboda od nepohodlí

Tato zásada v praxi obnáší, že zvíře musí mít přístup k vhodnému místu pro jeho odpočinek a k ochraně proti nepřízní počasí. Místo pro odpočinek by mělo být suché (podestlané slámou), čisté a dostatečně pohodlné.

3. Svoboda od bolesti, zranění a onemocnění

Tato zásada v praxi obnáší, že na zvířata v ekologickém zemědělství je přísně zakázáno používat elektrické poháněče, biče a jiné donucovací prostředky jenž produkují elektrický výboj. Důraz je kladen zejména na prevenci zranění a onemocnění. Pokud zvíře onemocní, musí být léčeno, protože nesmí v žádném případě trpět.

4. Svoboda od strachu a stresu

Ekologické zemědělství dbá na důraz minimalizace stresu, což se v praxi týká omezení transportu živých zvířat na nezbytně nutné minimum, nebo na minimalizace vzdálenosti transportovaného zvířete. Stavba stájí, rozlehlost pastvin, konstrukce naháněcích uliček, krmných a napájecích míst musí být navržena tak, aby nedošlo ke vzájemnému omezování osobního prostoru a tímto nedošlo k poranění, nebo nebezpečným situacím. Zároveň musí mít zvířata dostatek svého prostoru pro plnění fyziologických potřeb, aby nedocházelo ke stresu. Pokud by docházelo k neustálému narušování osobní zóny zvířete, přechází zvíře do stresu na nějž může reagovat agresivně a podrážděně. Důležitá je také skladba stáda, měla by se ve stáji udržovat hierarchie a neměla by být zbytečně narušována (bezdůvodné míchání zvířat mezi sekcemi). Při zařazování nového zvířete do stáda je nutná zvýšená opatrnost, jelikož nějakou dobu může trvat, než se ustanoví nová hierarchie a po tuto dobu většinou dochází k nepokojům.

5. Svoboda projevit přirozené chování

V přirozených podmínkách se skot pohybuje po krajině s pozvolným denním přísunem potravy v malých dávkách, kterým si plní trávicí trakt což je pro zvíře nejpřirozenější chování. Po nasycení se zvíře přesune na bezpečné místo, kde odpočívá a znovu tráví pozřitou potravu. V ekologickém zemědělství je nutné zvířeti poskytnout možnost volného pohybu na pastvině a bezpečné místo pro odpočinek. Skot je stádové zvíře, je nutné, aby měl ke své pohodě také kontakt

s ostatními zvířaty. Při reprodukci se klade důraz na přirozenou plemenitbu a buď se praktikuje volné připouštění plemenným býkem, který se volně pohybuje se stádem krav na pastvině, anebo inseminátorským technikem.

6. Svoboda vykonávat volně a osobně kontrolu nad vlastní životní pohodou

Zvíře má svou osobní svobodu a možnost se rozhodnout vyhnout utrpení, ale také stavům umrtvující nečinnosti. ^{[31][32]}

Postupem času došlo k formulaci definice ekologického zemědělství. Mezinárodní federace IFOAM (International Federation of Organic Agriculture Movements) definuje čtyři základní principy, ke kterým by měl tento typ zemědělství směřovat, inspirovat se a snažit se tyto zásady naplňovat. Jedná se o zásadu zdraví, zásadu ekologie, zásadu spravedlnosti a zásadu péče. Federace IFOAM je mezinárodní federace hnutí ekologického zemědělství. ^[15]

Zásada zdraví klade důraz na podporu přirozené imunologické obrany (dostatek krmiva, pohyb, dobré hygienické podmínky, nebo přirozený počet zvířat na farmě, které zemědělec zvládne obstarat). Zásada zdraví taktéž klade důraz na fakt, že jediné zdravá půda produkuje zdravé plodiny, které vedou ke zdraví lidí i zvířat. Ekologické zemědělství by se mělo zaměřit na produkci kvalitních komodit. Zásada ekologie znamená, že ekologická produkce je založena na recyklaci a ekologickými procesy. Důležitou součástí všech živých organismů je prostředí. Pro zvířata je prostředí ekologická farma, pro rostliny kvalitní půda a pro ryby vodní prostředí. Zásada spravedlnosti trvá na zajištění kvalitních, a hlavně důsledných podmínek pro život zvířat na farmě. Zásada péče zahrnuje preventivní opatření a odpovědnost vedoucí k zachování zdraví a pohody zvířat. Zahrnuje také posouzení nových technologií a metod, zda by v budoucnosti neměly negativní vliv na životní prostředí a jsou k němu dostatečně šetrné. ^{[15][31]}

Cíle ekologického zemědělství:

- Zlepšit či trvale udržovat úrodnost půdy
- Pracovat v uzavřeném systému, využívat místní zdroje
- Vyvarovat se všech forem znečištění životního prostředí, pocházejícího ze zemědělství, minimalizovat používání neobnovitelných zdrojů energie
- Produkovat komodity o vysoké nutriční hodnotě

- Vytvořit hospodářským zvířatům podmínky, které odpovídají jejich potřebám [15]

3.2.1 Chování zvířat na ekologické farmě

Zvířata chovaná v rámci ekologického zemědělství jsou krmena vlastní produkcí ekologické farmy. Tyto krmiva jsou pěstována dle přísných nařízení pro pěstování bio plodin. Na těchto farmách jsou zvířata chovány v soužití s přírodou, bez omezování jejich vlastní přirozenosti. Výsledkem jsou vysoce kvalitní masné a mléčné produkty, které převyšují produkty z konvenčního zemědělství tím, že mají vyšší výživovou hodnotu a jsou přínosem pro zdraví spotřebitele.

Hospodářská zvířata jsou chována převážně na pastvě, (patevní období u dojných plemen je zhruba od dubna do října), na zimní období se zvířata pohybují pouze po stáji, nebo ve venkovních výběžích a jsou krmena ekologickým krmivem. Ekologické krmivo se skládá z jetelotravní senáže, která může obsahovat i senážní oves. V konvenčním zemědělství se skot může krmit vedle senáže i kukuřičnou siláží. Základem pro kvalitní krmivo je naprosto přesné stanovení zralosti, které určují kvalifikovaní výživoví specialisté, počasí při sklizni, kvalitní udusání do senážní jámy a uzavření krmiva dvěma plachtami proti přístupu vzduchu. Ekologické dojnice do senáže dostávají certifikovanou šrotovou směs (pšenice, ječmen) a dle potřeby se krmení nastaví senem či slámou pro motoriku pohybu bachoru. Na stáji, kde probíhal odběr vzorků je stanovený přesný režim prací, které musí probíhat každý den ve stejný čas, jelikož dojnice potřebují pravidelnost. Tato pravidelnost se týká jak krmení, dojení, kydání, tak i vyhánění na pastvu. Pokud se jedná o patevní období, musí se krávy nejprve podojit, poté nakrmit a teprve pokud dostaly denní dávku krmení se šrotem se vyhánějí na pastvu, kde tráví převážnou část dne pasením, nebo odpočíváním. Obrázek č. 7 je názorným příkladem patevního období. Vzhledem k režimu ranního a odpoledního dojení, se musí krávy na odpolední dojení stáhnout z pastvy do chléva a po podojení již zůstávají na noc ve chlévě. [15]

Obrázek č. 7: Holštýnské dojnice na pastvě.



Zdroj: Vlastní fotografie.

Mláďata musí být krmena výhradně přirozeným mlékem, nejlépe od své matky po dobu nejméně pěti dnů, než se z kolostra stane zralé mléko. Krmení mláďat by mělo probíhat za hygienických podmínek a z lahve, obsahující určenou dávku mléka. Názorné krmení mláděte z lahve je zobrazeno na Obrázku č. 8. Pomocí krmné lahve se dá s jistotou určit, že mládě vypilo dostatek mleziva, jenž mu náleží. Každé novorozené tele musí dle zootechnických pravidel vypít do dvou hodin života, dva litry nezralého mléka. Dodržuje se vysoká úroveň kvalitních životních podmínek hospodářských zvířat a používají se chovatelské postupy, které odpovídají jejich potřebám. Jedná se o psychickou i fyzickou pohodu zvířat, jsou chovaná ve skupinách již od raného věku, aby si vytvořili přirozenou sociální vazbu s ostatním dobyt看kem. ^[32]

Obrázek č. 8: Krmení mláděte.



Zdroj: Vlastní fotografie.

3.2.2 Produkty ekologického zemědělství a značení komodit

Produkty, které jsou vytvořené ekologickým zemědělstvím, musí splňovat pravidla, která jsou nařízena dle stanov EU. Pro označování bylo vytvořeno logo, které má za úkol informovat spotřebitele, že tento produkt je vytvořen ekologickým zemědělstvím a prošel přísnou kontrolou. Tento produkt byl vytvořen s maximálním ohledem na životní prostředí a pro spotřebitele je zdravotně nezávadný. [33]

Vyšší kvalita produktů ovšem souvisí s vyššími náklady na produkci, a z tohoto důvodu jsou Bio potraviny dražší než potraviny z konvenčního zemědělství. Průzkum spotřebitelů ovšem dokázal, že spotřebitelé stále častěji vyhledávají produkty označené logem ekologické produkce a jsou schopni připlatit za kvalitu, výživovou hodnotu a zdraví. [34]

Loga pro ekologické zemědělství v EU jsou dvě. Jedná se o národní značení, které se používá v České republice a evropské značení. Biopotraviny produkovány Českou republikou musí být označené jak národním logem, tak i evropským logem. Názorná ukázka loga je uvedena na Obrázku č. 9. [33]

Obrázek č. 9: Grafický znak BIO, tzv. biozebra.



Zdroj: Loga a značení, EAGRI.

Biozebra s nápisem „Produkt ekologického zemědělství“ se v České republice používá jako celostátní ochranná známka pro biopotraviny a logo je možné použít pouze v souladu s ustanovením zákona č. 242/2000 Sb. o ekologickém zemědělství ve znění pozdějších předpisů a vyhlášky č. 16/2006 Sb. Logo biozebry musí nést na svých obalech nejen biopotraviny, ale i bioprodukty produkované Českou republikou a v neposlední řadě zde musí být umístěn číselný kód kontrolní organizace (CZ-BIO-xxx). [33]

Grafický znak loga společenství označující ekologickou produkci je definován v nařízení Rady (ES) č. 834/2008 o ekologické produkci a označování ekologických produktů v nařízení (EHS) č. 2092/91. Podobu loga, podmínky užívání a tvar číselného a kontrolního kódu stanovuje nařízení Komise (EU) č. 271/2010. Logo je uvedeno na

Obrázku č. 10. Užívání je povinné od roku 2010 a vedle povinného používání loga EU pro ekologickou produkci na biopotravinách je nutné a povinné označovat na obalu i místo, kde byly vyprodukovány suroviny. Pokud je toto logo použito, musí být vždy na obalu doprovázeno číselným kódem kontrolní organizace a informace o místě původu surovin. [33][34]

Obrázek č. 10: Evropské značení ekologické produkce.



Zdroj: Loga a značení, EAGRI.

3.2.3 Ekologická výroba mléka (biomléka)

Biomléko má oproti konvenčnímu mléku vyšší obsah některých bioaktivních látek, které mají pozitivní vliv na zdraví spotřebitele. Biomléko obsahuje více α -tokoferolu (vitaminu E) až o 50 % a β -karotenu (vitaminu A) až o 75 %.^[37] Vitamin A a E udržují oxidační stabilitu a jejich zastoupení v mléce se zvyšuje opět po zkrmování zelené píce a jetelotravní senáže. Dle Kraft a kolektiv^[35] obsahuje biomléko více omega 3 mastných kyselin, což je dáno hlavně zkrmováním většího podílu zeleného krmiva. Zelené krmivo vede ke vhodnému složení mastných kyselin v mléce a optimální složení mastných kyselin má pozitivní vliv na prevenci kardiovaskulárních onemocnění.^[35] Profil mastných kyselin kravského mléka má úzkou vazbu na skladbu mastných kyselin v krmné dávce. Konjugovaná kyselina linolová a vitamin E byly diagnostikovány v mléce dojníc, které se pásly a jejichž krmná dávka obsahovala vysoký obsah vlákniny. Předpokládá se, že krmná dávka s vysokým obsahem vlákniny může zvýšit obsah lipofilních vitaminů v mléce.^[36]

Jednou z velkých předností biomléka v porovnání s konvenčním mlékem je vysoká nepravděpodobnost výskytu reziduí chemických látek, antibiotik a hormonů. Tyto látky jsou v ekologickém zemědělství zakázány, nebo je jejich použití pod přísnou ochranou lhůtou, která činí dvojnásobek dané ochranné lhůty výrobcem. Předností a trendem biomléka, jenž je v dnešní době ceněna širokou řadou konzumentů, je způsob chovu dojníc. Příplatek za kvalitu BIO je nejčastěji spojován s kvalitativními parametry, což je

tučnost a obsah bílkovin. Obrázek č. 11 prezentuje čerstvé mléko. V ekologickém zemědělství je dbáno na welfare, tím se rozumí chov dojnic co nejvíce přizpůsobit jejich přirozenému chování a potřebám. Krmením dojnic objemovými krmivy skládající se z jetelotravní senáže a zelené píče dochází k nižší produkci litrů mléka za rok ve srovnání s konvenčními dojnicemi, zato je biomléko obsahem zdraví prospěšných látek, více ceněno. [37]

Obrázek 11: Biomléko s 4% obsahem tuku.



Zdroj: OLMA, BIO mléko čerstvé. Dostupné online z: www.olma.cz

Zdroje výše uvedených bioaktivních látek nutričně obohacují výrobky, určené pro výživu určitých skupin obyvatelstva. Výroba biomléka na ekologických farmách je uskutečňována na základě poptávky spotřebitelů po zaručeně zdravotně nezávadných výrobcích. Výroba biomléka zaručuje nejen bezpečnost potravin, ale i podporu lidského organismu a při dlouhodobé konzumaci může napomoci i ke snížení nemocnosti. [36]

3.2.4 Rozdíly v ekologickém a konvenčním chovu mléčných krav

Konvenční zemědělství zajišťuje produkci potravinářských surovin pro většinu obyvatel nejen na území ČR, ale také pro obyvatele ostatních zemí. Velká část produkce se vyváží většinou jen jako surovina (pšenice, syrové mléko, selata a mladý skot). Konvenční zemědělství se vyznačuje především soustředěním se na maximální výnos. Byl započat rozvojem vědy a techniky, začaly se používat nové a stále silnější stroje a v neposlední řadě byla vyvinuta umělá hnojiva s biocidy, které umožnily zemědělcům několikanásobně zvýšit výnos. V živočišné produkci dochází ke zvětšování chovů s cílem vyššího zisku, tím se ovšem omezuje životní prostor chovaných zvířat a znemožnění volného pohybu ve výběhu. Na takto chovaná zvířata je pohlíženo jako na zdroj zisku. [38]

Ekologické zemědělství je charakterizováno jako zemědělský systém hledící na ochranu životního prostředí. Největší důraz je kladen na regulaci užívaných látek v zemědělství. Pomocí seznamů se vymezují látky, které lze používat a které nikoliv. Při chovu zvířat je naprosto zásadní psychická pohoda a životní prostředí, které jim nepůsobí žádné fyzické ani psychické problémy, což lze vysvětlit tak, že mají dostatek volného prostoru, přístup na čerstvý vzduch, možnost volného pohybu a kvalitní krmení bez přidaných stimulantů růstu a geneticky modifikované organismy. Výstupem takto chovaných zvířat jsou bioprodukty a biopotraviny, které jsou kvalitní a získány za šetrného využití přírodních zdrojů. V ekologickém zemědělství by mělo platit pravidlo, že ze zdravé půdy vychází zdravé rostliny a zvířata, z kterých lze získávat zdravé potraviny pozitivně působící na zdraví lidí.

[31]

II. PRAKTICKÁ ČÁST

4 CÍLE PRÁCE

Cílem diplomové práce bylo posoudit mikrobiologickou kvalitu syrového mléka vybraných dojnic z ekologického chovu. Pro naplnění základního cíle bylo nutné uskutečnit dílčí cíle:

- Vybrat vhodné dojnice v závislosti na plemenné příslušnosti a pořadí laktace
- Odebírat jednotlivé vzorky syrového mléka v průběhu hlavní sezóny laktační periody s ohledem na roční období a způsob ustájení
- Provést mikrobiologickou analýzu vzorků syrového mléka.

5 MATERIÁLY A METODIKA

5.1 Popis sledovaných faktorů

Tato diplomová práce se zabývá sledováním mikrobiologické jakosti mléka v závislosti na vybraných faktorech:

- Pástevní období
- Počet laktací
- Plemenná příslušnost dojnice

Ekologické zemědělství umožňuje chovat hospodářská zvířata dvěma druhy ustájení. Prvním je celoroční ustájení na pastvině, které je spojené ve většině případů s masným skotem. Druhým je ustájení ve stáji s přístupem do výběhů, nebo na pastvinu. Tento způsob ustájení se volí pro dojený skot. Pástevní období chovu ekologických dojnic začíná jarem a končí podzimem téhož roku. Na farmě, kde byly vzorky odebrány, se dojnice pasou od května do září, každý den po dobu 8-10 hodin. V zimním období, které probíhá od října do března, zůstávají dojnice v chlévě a jsou krmeny pouze senáží. Kvalita senáže ovlivňuje mikroflóru bacheru, a tak ovlivní i mikrobiologii mléka. ^[15]

Teplota ovzduší je závislá na ročním období a značně ovlivňuje kvalitu a mikrobiologii mléka. Při vysokých teplotách může dojnice přecházet do tepelného stresu, který má vliv na celý organismus krávy, potažmo na její mléko. Organismus skotu má schopnost vytvářet velké množství tepla pomocí svalové aktivity, ale i mikrobiální činností bacheru. Při dlouhodobém působení zvýšené teploty ovzduší lze dojít i k přehřátí organismu, kdy se snižuje příjem krmiva. Proto lze skoro v každém chovu během letních měsíců pozorovat pokles užitkovosti a pokles přírůstku živé hmotnosti. Tyto reakce organismu se označují jako tepelný stres. ^[14]

Počet laktací je parametrem, který se sleduje ve všech chovech. Se stoupajícím počtem laktace je vyšší pravděpodobnost zvýšení somatických buněk v mléčné žláze. Somatické buňky jsou buňky vlastního těla a jsou přirozenou součástí mechanismů přirozené obranyschopnosti. Jejich hlavní funkcí je fagocytóza bakterií, které do mléčné žlázy proniknou. Pokud je mléčná žláza infikována, dochází ke zvýšení počtu somatických buněk v mléce, proto je zvýšení počtu somatických buněk chápáno, jako indikátor

zdravotního stavu vemene. V mléce zdravé krávy by mělo být méně než 100 000 somatických buněk na 1 ml mléka. [13]

Na farmě, kde byly vzorky odebírány, se z 95 % chovají dojnice holštýnského skotu, zbylých 5 % jsou dojnice červenostrakatého skotu. Z tohoto důvodu byly vybrány jak dojnice holštýnské, tak dojnice červenostrakaté. Holštýnský skot je plemeno primárně vyšlechtěno na produkci mléka. Červenostrakatý skot je plemeno masné i mléčné užitkovosti. [15][16]

5.2 Metodika

5.2.1 Odběr vzorků

Odebírání vzorků probíhalo v období od března do listopadu roku 2021. Pro analýzu byly vybrány 4 dojnice a 1 vzorek směsný (bazénový). V den odběru byl zaznamenán datum, teplota, vlhkost vzduchu, tlak, srážky a tyto důležité informace byly vepsány do tabulky pro lepší přehlednost (Tabulka 1). Dojnice byly vybrány dle plemenné příslušnosti a výši laktace:

Vzorek C6 - červenostrakatá dojnice na šesté laktaci.

Vzorek C1 - červenostrakatá dojnice na první laktaci.

Vzorek H6 - holštýnská dojnice na šesté laktaci.

Vzorek H1 - holštýnská dojnice na první laktaci.

Vzorek BV – bazénový vzorek.

Tabulka 1: Specifikace enviromentálních podmínek při odběru vzorků syrového mléka.

Datum odběru	Testované vzorky	Počet vzorků	Teplota [°C]	Vlhkost vzduchu [%]	Tlak [hPa]	Srážky [mm]
24.03.2021	C6, H1, C1, H6, BV	5	5	95	1023,9	0
21.04.2021	C6, H1, C1, H6, BV	5	11	78	1012,6	0
19.05.2021	C6, H1, C1, H6, BV	5	24	93	1017,3	1
23.06.2021	C6, H1, C1, H6, BV	5	26	98	1022,2	2,7
22.07.2021	C6, H1, C1, H6, BV	5	28	78	1025,1	2,2
18.08.2021	C6, H1, C1, H6, BV	5	25	95	1019,3	3,6
20.09.2021	C6, H1, C1, H6, BV	5	23	94	1024,6	0,6
25.10.2021	C6, H1, C1, H6, BV	5	14	74	1027,9	0
30.11.2021	C6, H1, C1, H6, BV	5	8	99	1008,3	3,4

Vzorky byly odebírány v každém měsíci od určených dojnic. Postup odebírání vzorků byl následovný: Vemeno bylo očištěno od hrubých nečistot a byla aplikována pěnová dezinfekce na struky (Kenopure, výrobce CID LINES), která se používá před dojením, následně se struky očistily suchým ubrouskem od dezinfekce. Struky se přetřely lihovým ubrouskem pro maximální eliminaci mikroorganismů z okolí. Dále byly oddojeny první stříky a až poté byl vzorek odebrán do sterilní zkumavky. Dezinfekci struku lihovým ubrouskem lze pozorovat na Obrázku č. 12. Vzorek se nechal vždy vychladit v lednici při 4 ± 2 °C a po ½ hodině byl uschován do mrazícího boxu při teplotě -18 ± 2 °C o odebrání vzorků byla zaznamenána teplota vzduchu, vlhkost vzduchu a tlak.

Obrázek č. 12: Dezinfekce struku červenostrakaté dojnice lihovým ubrouskem.



Zdroj: Vlastní fotografie.

5.2.2 Příprava vzorků

Od doby doručení do laboratoře, až do doby rozboru byly vzorky uchovávány za takových podmínek, aby nedošlo ke změně množství, nebo složení kontaminující mikroflóry. Proto byly vzorky uchovávány v mrazícím zařízení -18 ± 2 °C na farmě, kde probíhal odběr. Pro odběr vzorků k mikrobiologickému rozboru byly použity 10 ml zkumavky, do kterých se z každého struku odstříklo syrové mléko. Po kompletním odběru z celého sledovaného

období, byly vzorky převezeny do laboratoře na Fakultu technologickou, Univerzity Tomáše Bati ve Zlíně a tam následně zpracovány a hodnoceny.

Zpracování vzorků v laboratoři spočívalo nejprve ve vyjmutí vzorků z mrazicího zařízení, nechaly se při 30 °C roztát a až poté se chystaly k ředění. Před každým ředěním bylo třeba vzorek zhomogenizovat, protože důkladná homogenizace je jedním ze základních předpokladů získání správného výsledku při mikrobiologickém rozboru. Při homogenizaci došlo k rozptýlení všech přítomných mikroorganismů v celém vzorku. Syrové mléko ve zkumavkách bylo homogenizováno protřepáním v zařízení s názvem Vortex, který je zobrazen na Obrázku č. 13.

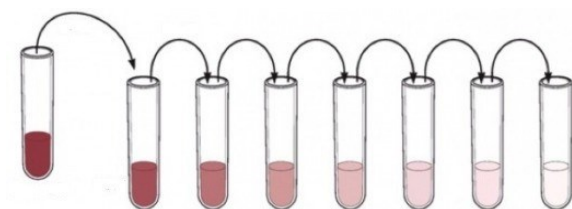
Obrázek č. 13: Vortex mixér sloužící pro homogenizaci obsahu zkumavky.



Zdroj: Vortex Mixer, Four E's Scientific Lab Vortex Shaker. Dostupný online z: www.ubuy.hu

Jestliže se předpokládá, že vzorek obsahuje vyšší počet mikroorganismů, je třeba dle odhadnutého počtu zvolit ředění. Základní ředění je definováno jako suspenze, emulze nebo roztok, získaný z odměřeného množství vzorku smíchané s devítinásobným množstvím ředícího roztoku. V tomto případě se jedná o první ředění vzorku. Další ředění se připravuje smísením 1 ml roztoku z prvního ředění a 9 ml ředícího roztoku. Jedná se o tzv. desítkové ředění, které je vyobrazeno na Obrázku č. 14. Ředícím roztokem byl fyziologický roztok, skládající se z 8,5 g chloridu sodného, 1 g peptonu a 1 litru destilované vody. ^[18]

Obrázek č. 14: Schématické znázornění přípravy ředění.



Zdroj: Bursová, Mikrobiologie potravin, upraveno.

Očkování suspenze probíhalo metodou roztěru. Na Petriho misku se aplikovalo vhodné kultivační médium, nechalo ztuhnout a povrch misky se nechal předsušit. Na předsušenou misku se aplikoval 1 ml z vybraného ředění a pomocí sterilní hokejky se rovnoměrně rozetřel. Po vsáknutí suspenze se misky vložily do termostatu o zvolené kultivační teplotě, otočily se dnem vzhůru (kvůli kondenzaci vody na povrch půdy) a nechaly se kultivovat potřebnou dobu.

Po hotové kultivaci se narostlé plotny vyndaly z termostatu a provedl se výpočet kolonie tvořících jednotek. Počet mikroorganismů přítomných ve vzorku se spočítal jako vážený průměr po sobě následujících ředění, a to dle rovnice na Obrázku č. 15.

Obrázek č. 15: Výpočet kolonie tvořících jednotek.

$$N = \frac{\sum C}{V \cdot (n_1 + 0,1 \cdot n_2) \cdot d} \quad [\text{KTJ} \cdot \text{ml}^{-1}] \text{ či } [\text{KTJ} \cdot \text{g}^{-1}]$$

Zdroj: Bursová Š., vyhodnocení výsledků plotnových metod, upraveno.

Kde:

$\sum C$ je součet všech kolonií vybraných ploten pro výpočet ze dvou po sobě jdoucích ředění,

V je objem inokula v ml očkovaného na každou plotnu,

n_1 je počet ploten vybraných k výpočtu z nižšího zvoleného ředění,

n_2 je počet ploten vybraných k výpočtu z vyššího zvoleného ředění,

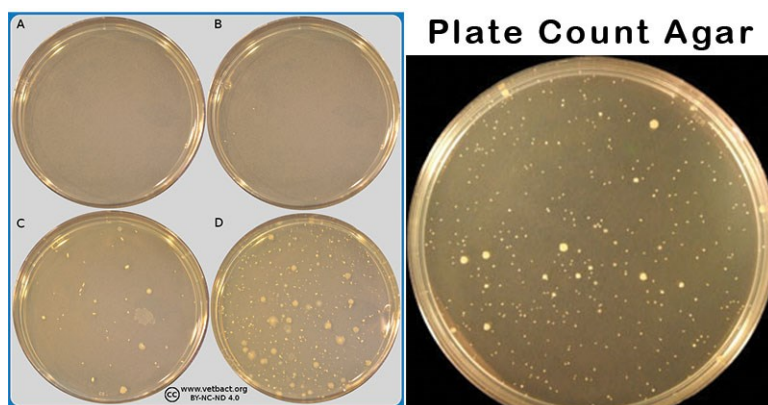
d je ředící faktor nižšího pro výpočet zvoleného ředění. ^[18]

5.2.3 Použité metody

5.2.3.1 Stanovení celkového počtu mikroorganismů

První metoda využitá pro analýzu mikroorganismů v syrovém mléce byla stanovení celkového počtu mikroorganismů. Pod tímto pojmem se rozumí počty mezofilních aerobních a fakultativně anaerobních mikroorganismů, které rostou v neselektivních nutričně bohatých médiích za aerobních podmínek. Inkubace probíhá 72 hodin při 30 °C. Pro stanovení celkového počtu mikroorganismů byly využity plotnové metody, kdy výsledkem je stanovení počtu kolonie tvořících jednotek (KTJ) v 1 ml vzorku, přičemž 1 narostlá kolonie představuje potomstvo jedné mikrobiální buňky. Pro toto stanovení byla zvolena půda PCA (Plate Count Agar), vyobrazená na Obrázku č. 16, složená z glukózy jako zdroj uhlíku a energie, tryptonu (peptonu) jako zdroj aminokyselin a polypeptidů, kvasničného extraktu jako zdroj uhlíku a vitamínů. [17]

Obrázek č. 16: Plate Count Agar (půda PCA).



Zdroj: Microbe Notes. (Dostupné online z: microbenotes.com/plate-count-agar-pca)

5.2.3.2 Stanovení aerobních a anaerobních sporulátů

Druhá metoda využitá pro analýzu mikroorganismů v syrovém mléce byla stanovení aerobních a anaerobních sporulátů. Tekutý vzorek o objemu 1ml se rozetře na živnou půdu v Petriho miskách. Jako arbitrážní půda byla pro stanovení anaerobních sporulátů zvolena půda RCA (Reinforced Clostridial Agar), zobrazená na Obrázku č. 17, složená z hovězího a kvasničného extraktu, dextrózy, chloridu sodného, octanu sodného a agaru. Arbitrážní půda pro aerobní sporuláty byla PCA (Plate Count Agar). Před vlastním očkovaním se musí provést tepelná inaktivace vzorku záhřevem na 80 °C po dobu 10 minut, z čehož

vyplývá, že tato metoda byla vždy použita až po naočkování všech ostatních půd. Účelem záhřevu je devitalizace vegetativních forem sporotvorných bakterií a ostatních mikroorganismů. Naočkované plotny se inkubují (v případě stanovení aerobních sporulátů) při 30 °C po dobu 72 hodin. V případě stanovení anaerobních sporulátů se naočkované plotny inkubují při teplotě 37 °C po dobu 72 hodin v anaerobním prostředí. Stanoví se počet aerobních, respektive anaerobních sporotvorných bakterií v 1 ml vzorku z počtu kolonií na narostlých plotnách. Pro výpočet se využívají misky obsahující 10 – 150 kolonií. [17]

Obrázek č. 17: Zesílený klostridiální agar, Reinforced Clostridial Agar (půda RCA).



Zdroj: Anaerobe systems, upraveno. Dostupné online z: anaerobesystems.com

5.2.3.3 Stanovení mezofilních bakterií mléčného kvašení

Třetí metoda využitá pro analýzu mikroorganismů v syrovém mléce bylo stanovení mezofilních bakterií mléčného kvašení. Půdy určené pro stanovení mezofilních bakterií mléčného kvašení jsou obohaceny kvasničným extraktem, glukózou a Tweenem 80 (což je zdroj mastných kyselin). Růst ostatním mikroorganismům je znemožněn inhibičními složkami (citrát amonný, nebo octan sodný) a nízkým pH (5,7). Jako arbitrážní půda byla zvolena půda MRS (De Man, Rogosa a Sgarpe agar). Naočkované plotny se inkubovaly anaerobně při teplotě 30 °C po dobu 72 hodin. Po ukončení kultivace se počítaly všechny narostlé kolonie na miskách obsahující alespoň 10 – 300 kolonií. Počet mezofilních bakterií mléčného kvašení se opět vyjádřil jako počet KTJ v 1 ml roztoku vzorku. [17]

5.2.3.4 Stanovení psychrotrofních mikroorganismů

Čtvrtá metoda využita pro analýzu mikroorganismů v syrovém mléce bylo stanovení psychrotrofních mikroorganismů, což jsou bakterie, kvasinky a plísňe schopné růst na neselektivní živné půdě při teplotě 6,5 °C, kde se během 10 dnů vytvoří viditelné kolonie. Určený objem vzorku se roztírá na neselektivní živou půdu v Petriho miskách. Pro stanovení byla zvolena jako vhodná půda PCA (Plate Count Agar) složená z glukózy jako zdroj uhlíku a energie, tryptonu (peptonu) jako zdroj aminokyselin a polypeptidů, kvasničného extraktu jako zdroj uhlíku a vitamínů. Pro očkování se volí metoda rozčtu, protože se tím zabráňuje tepelnému stresu mikroorganismů. Naočkované plotny se inkubují při 6 °C po dobu 10 dnů a po ukončení inkubace se stanoví počet psychrotrofních mikroorganismů v 1 ml vzorku a počítají se všechny narostlé kolonie na každé misce bez ohledu na jejich velikost, barvu či tvar. Pro výpočet se použijí misky obsahující 10 – 150 kolonií ve dvou po sobě jdoucích ředění a počet psychrotrofních mikroorganismů se vyjádří jako počet KTJ v 1 ml vzorku. ^[17]

5.2.3.5 Stanovení bakterií čeledi *Enterobacteriaceae*

Pátá metoda použita pro analýzu mikroorganismů v syrovém mléce bylo stanovení bakterií čeledi *Enterobacteriaceae*. Stanovení bakterií čeledi *Enterobacteriaceae* je založeno na použití selekčních činidel, které potlačují růst grampozitivních mikroorganismů, indikátorů zkvašování laktózy a provedení oxidázového testu. Selekční činidla jsou např. žlučové soli, krystalová violet, nebo brilantová zeleň. Pro toto stanovení byla použita jako arbitrážní půda VČŽL, což je agar s krystalovou violetí, neutrální červení a žlučí s laktózou. Půda VČŽL je zobrazena na Obrázku č. 18. Inkubace probíhá aerobně při 37 °C po dobu 24 hodin. Po inkubaci se provede spočtení charakteristických kolonií narostlých na každé misce. Morfologie charakteristických kolonií jsou narostlé kolonie růžovočervené, červené nebo fialové barvy a mohou být obklopeny růžovou zónou precipitace. Pro hodnocení použijeme misky obsahující 10 – 150 kolonií ve dvou po sobě jdoucím ředění. ^[17]

Obrázek č. 18: Agar s krystalovou violetí, neutrální červení, žlučí a laktózou (VČŽL).



Zdroj: Metoda průkazu bakterií čeledi Enterobacteriaceae. Dostupné online z: <https://cit.vfu.cz/mikrob-atlas/texty/Enterobacteriaceae-uvod.html>.

Mikrobiologické vyšetření syrového mléka bylo provedeno kultivačními metodami podle příslušných norem:

- SN EN ISO 4833-1 (560083) Mikrobiologie potravinového řetězce-Horizontální metoda pro stanovení počtu mikroorganismů-Část 1: Technika přelivem a počítání kolonií vykultivovaných při 30 °C.
- ČSN ISO 4832 (560085) Mikrobiologie potravin a krmiv-Horizontální metoda stanovení počtu koliformních bakterií-Technika počítání kolonií.
- ČSN ISO 17410 (560119) Mikrobiologie potravinového řetězce - Horizontální metoda stanovení počtu psychrotrofních mikroorganismů
- ČSN ISO 15213 (560652) Mikrobiologie potravin a krmiv - Horizontální metoda stanovení počtu bakterií redukujících sulfity za anaerobních podmínek růstu

6 VÝSLEDKY A DISKUZE

6.1.1 Celkový počet mikroorganismů

Pro stanovení celkového počtu mikroorganismů byly využity plotnové metody, kdy výsledkem je stanovení počtu kolonie tvořících jednotek (KTJ) v 1 ml vzorku, přičemž 1 narostlá kolonie představuje potomstvo jedné mikrobiální buňky. Za podmínek pro stanovení celkového počtu mikroorganismů je možno zjistit jen druhy mezofilní (aerobní a fakultativně anaerobní mikroorganismy, bakterie, kvasinky a plísňe). Počet výše zmiňovaných mikroorganismů je označován jako stupeň mikrobiálního znečištění. Celkový počet mikroorganismů je ukazatelem hygienické kvality získávání, skladování syrového mléka a sanitace zařízení. ^[17]

V zimním období byly zaznamenány zvýšené hodnoty u červenostrakaté dojnice na šesté laktaci (vzorek C6) a u holštýnské dojnice na šesté laktaci (vzorek H6). V souvislosti s vyšším počtem laktací se u zmíněných dojnic jedná o ochablé strukové svěrače, jejichž funkcí je uzavřít strukový kanálek pro minimální možný průchod mikroorganismů do mléčné žlázy. Vyšší počet laktace a s tím spojený vysoký věk dojnice souvisí taktéž s velkou namáhavostí struků, což zobrazuje Obrázek č. 19.

Červenostrakaté dojnici na první laktaci (vzorek C1) byl v měsíci březnu diagnostikován velmi silný zánět v levé přední čtvrti mléčné žlázy a taktéž se tato zdravotní indispozice zobrazila při stanovení celkového počtu mikroorganismů, jak je možné pozorovat na Obrázku č. 19 zvýšeným počtem mikroorganismů.

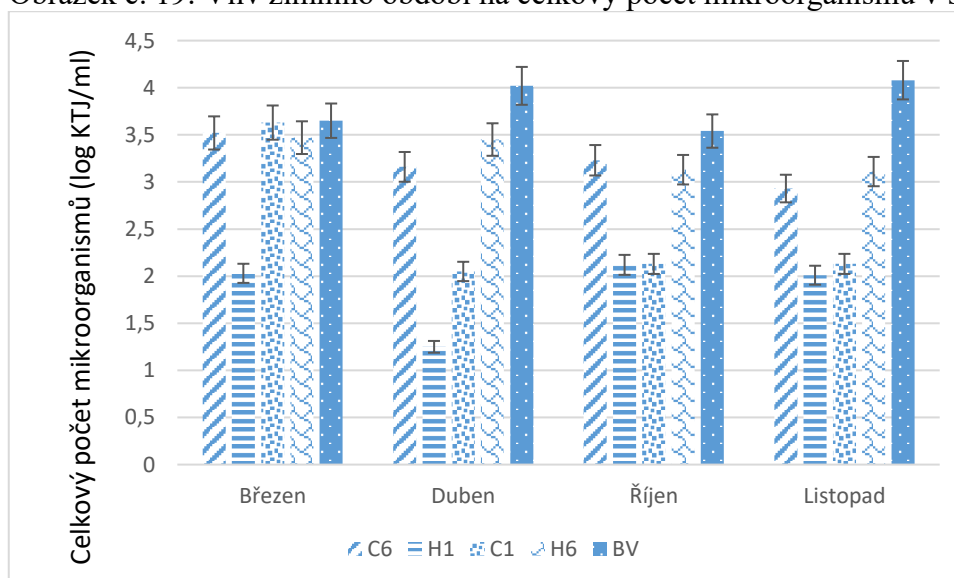
Holštýnská dojnice na první laktaci (vzorek H1) měla oproti dojnicím s vyšším počtem laktací nižší celkové počty mikroorganismů. S přihlédnutím na první laktaci jsou její strukové kanálky užší a brání tak průniku mikroorganismů z prostředí do mléčné žlázy, což je opět možné pozorovat na Obrázku č. 19.

Celkové počty mikroorganismů v bazénových vzorcích se v jednotlivých měsících v zimním období od sebe nijak výrazně nelišily a odvíjely se zejména od hygieny získávání mléka. Z rozborů akreditované laboratoře vyplývá skutečnost, že celkové počty mikroorganismů v dodávaném syrovém mléce z farmy, na které probíhal odběr nepřekračují limit 100 000 KTJ/ml. Pokud je zaznamenán z rozborů akreditované laboratoře zvýšený celkový počet mikroorganismů, pak je ve většině případů zaznamenán i

zvýšený počet koliformních a psychrotrofních bakterií. Při jakémkoliv zvýšení mikroorganismů v mléce je nutné nejprve projít celý sanitační program a pokud zde není identifikován problém, musí se pokračovat v hledání jiné možné příčiny. V dalších krocích se zootechnik přesune na dojírnu a sleduje, zda je mléko získáváno v daných technologických krocích, aby byla zajištěna dostatečná hygiena práce.

Ekologická stáda dojnic v České republice mohou mít zvýšené celkové počty mikroorganismů v případě použití starších typů dojících zařízení. V souvislosti se starším typem dojících zařízení se může vyskytnout vyšší frekvence hlavního mastitidního patogena *Staphylococcus aureus*. Vzhledem k omezeným možnostem použití dezinfekčních prostředků jsou podmínky dojení v ekologických chovech specifickým problémem. Výzkum hygienických a zdravotních ukazatelů mléka, jak uvádí Výzkumný ústav mlékárenský MILCOM a.s., ekologických stád dojnic v České republice ukázal za poslední čtyři roky zajímavé informace. V porovnání ke konvenčnímu zemědělství existuje v ekologickém mlékařství poměrně vyrovnaný stav počtu somatických buněk, vyrovnaný stav v celkových počtech mikroorganismů v mléce a příznivě nízký výskyt mastitidního patogena *Streptococcus agalactiae*. Uvádí také, že častější pastva ekologických stád může přispívat většinou k lepší hygieně mléčné žlázy chovaných dojnic. [22]

Obrázek č. 19: Vliv zimního období na celkový počet mikroorganismů v syrovém mléce.



Současně Výzkumný ústav MILCOM a.s. uvádí, že pastevní období spíše více přispívá k lepší hygieně mléčné žlázy chovaných dojnic a tento fakt je možné pozorovat i zde. Na Obrázku č. 19 bazénové vzorky v zimním období, kdy jsou dojnice chované pouze ve stáji,

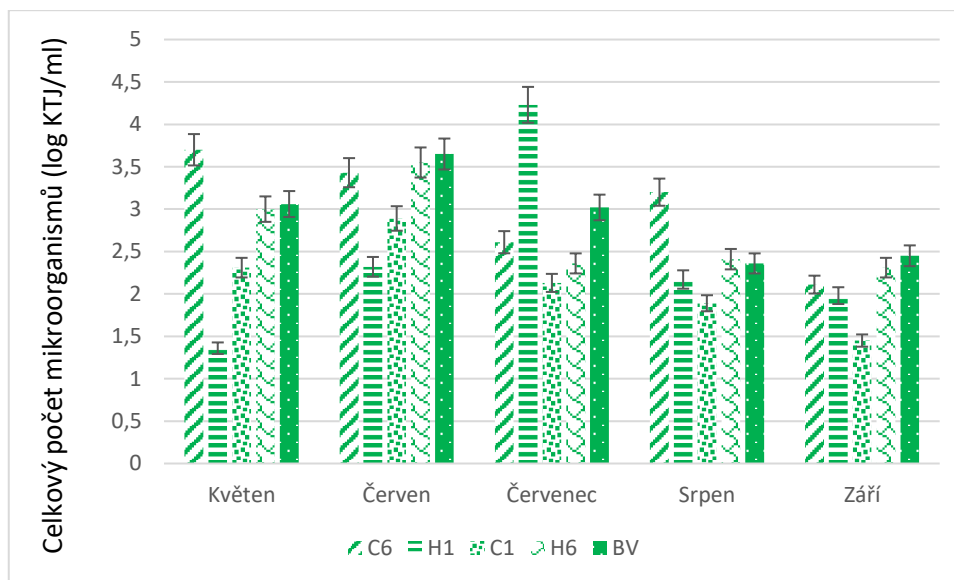
dosahovaly v celkovém počtu mikroorganismů v rozmezí od 3,5 do 4,08 log KTJ/ml. Stáj je kvůli slamnaté podestýlce velkým zdrojem prachu, který může z povrchu srsti kontaminovat získávané mléko. ^[6] Na Obrázku č. 20 jsou zobrazeny celkové počty mikroorganismů pro pastevní období, kdy se chované dojnice v ranních hodinách po podojení vypustí na pastvinu. V případě bazénových vzorků hodnoty CPM dosahovaly v rozmezí od 3,06 do 3,65 (log KTJ/ml). Na pastvině se dojnice pohybují celý den, do té doby, než je třeba je odpoledne znovu podojit. Při pohlednutí na rozdílnost mezi zimním a pastevním obdobím je patrné, že výskyt celkového počtu mikroorganismů u testovaných vzorků je v souladu s tvrzením Výzkumného ústavu MILCOM a.s., jenž uvádí, že pastevní období spíše více přispívá k lepší hygieně mléčné žlázy chovaných dojnic

V pastevním období byly zaznamenány zvýšené hodnoty CPM u červenostrakaté dojnice na šesté laktaci (vzorek C6) a u holštýnské dojnice na šesté laktaci (vzorek H6) byly hodnoty kolísavé (pozorován zvýšený nárůst CPM v červnu). Vzhledem k tomu, že vzorky byly odebírány na dojrně, je vysvětlení možné nalézt v pochybení při odběru vzorku (do sterilní zkumavky se mohl dostat prach, srst, nebo bakterie z prostředí). V měsících červenec až září byly v případě dojnice H6 pozorovány vyrovnané hodnoty CPM.

Holštýnská dojnice na první laktaci (vzorek H1) měla v měsíci červenci zvýšený celkový počet mikroorganismů, ale tato dojnice měla diagnostikován zánět mléčné žlázy. Při zánětu mléčné žlázy se vzorek z postižené čtvrtě odebere ke stanovení původce, veterinárním lékařem. V tomto případě se jednalo o patogen *Staphylococcus aureus*. Tento patogen byl léčen intramamární suspenzí po dobu třech dní a jako podpůrná léčba byla využita technika vydojování společně s použitím chladivé masti pro zmírnění otoku.

Červenostrakatá dojnice na první laktaci (vzorek C1) měla skoro konstantní výskyt celkového počtu mikroorganismů v syrovém mléce, až na měsíc červen. U tohoto měsíce je možné, že se jednalo o kontaminaci při odběru mléka do sterilní zkumavky z prostředí, což je možné pozorovat na Obrázku č. 20.

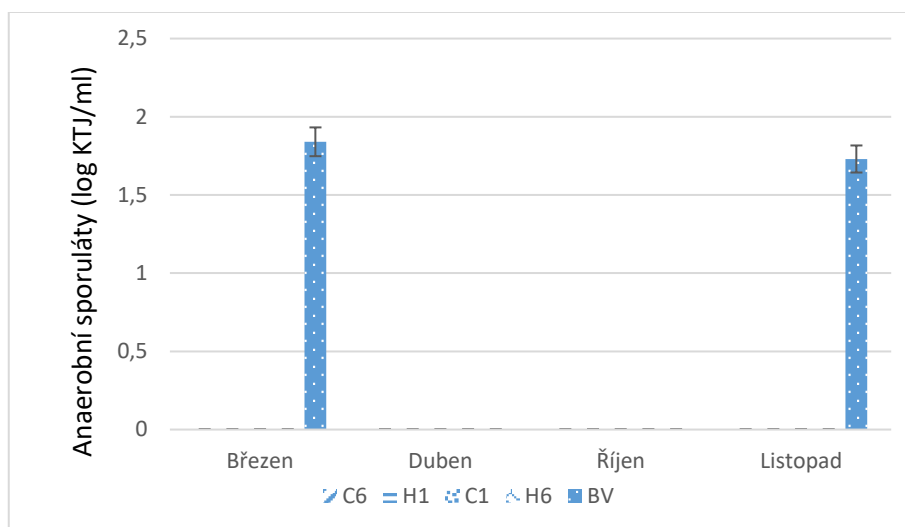
Obrázek č. 20: Vliv pastevního období na celkový počet mikroorganismů v syrovém mléce.



6.1.2 Anaerobní sporuláty

Na Obrázku č. 21 je znázorněn výskyt anaerobních sporulátů v syrovém mléce získaném v zimním období (dojnice po celou dobu ustájené). Z výsledků je patrný zvýšený počet anaerobních sporulátů v měsíci březnu a listopadu. V měsíci březnu byla zaznamenána teplota ovzduší 5 °C, vlhkost vzduchu 90 % a žádné srážky. Jelikož žádné dojnici nebyl identifikován anaerobní sporulát ve vzorcích mléka, pouze v bazénovém vzorku, je jako nejpravděpodobnější alternativou kontaminace syrového mléka ze znečištěných vemen, což znamená, že ošetřovatelé, kteří musí silně znečištěná vemen umývat dezinfekčními roztoky, pochybili v procesu technologie dojení. Nejčastější pochybení spočívá v nedostatečné hygieně a přísátí dojícího zařízení na znečištěné struky kontaminované sporuláty z prostředí. ^[17] Zároveň je pravděpodobné zkrmení části bočních stran jetelotravní senáže, což vychází z předpokladů, které byly zmíněny v souvislosti se zmíněnou literaturou Vissers a kolektiv. ^[19]

Obrázek č. 21: Vliv zimního období na výskyt anaerobních sporulátů v syrovém mléce.



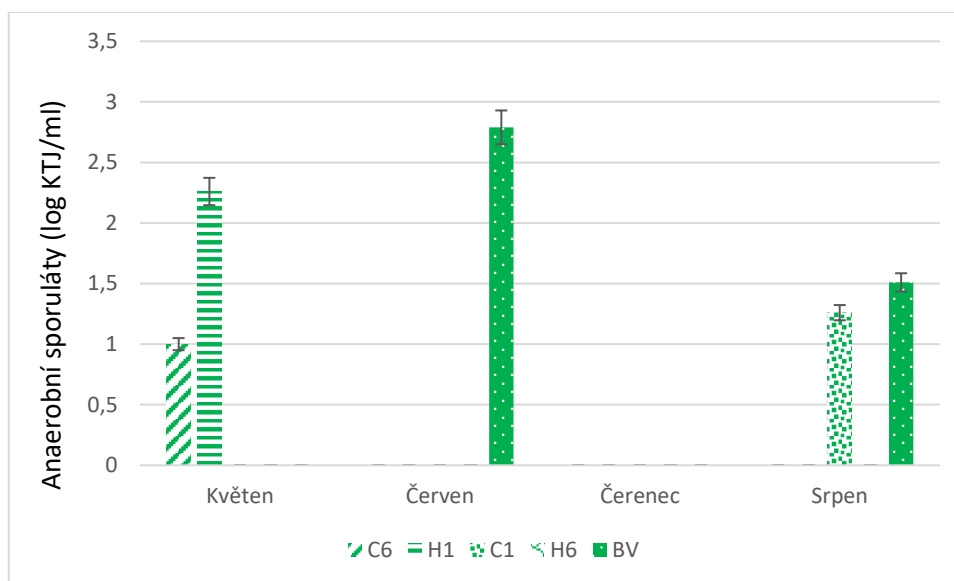
Ačkoliv v zimním období byly identifikovány anaerobní sporuláty pouze u bazénového vzorku z března a listopadu, při pastevním období byly identifikovány sporuláty i u vzorku syrového mléka u třech krav, jenž zobrazuje Obrázek č. 22. V květnu se objevil anaerobní sporulát u červenostrakaté dojnice na šesté laktaci (vzorek C6) a holštýnské dojnice na první laktaci (vzorek H1). Při odebrání vzorku byla zaznamenána teplota ovzduší 24 °C a dojnice se minimálně tři týdny již pásly na čerstvé trávě. Travní porost na louce byl čerstvý a zároveň byl tento měsíc pozitivní ve smyslu růstu travního porostu z důvodu četných a vysokých, ale nárazových srážek. Tímto by mohlo dojít ke spásání travního porostu znečištěného od hlíny z půdy a tím se mohly sporuláty dostat do trávicího ústrojí pasoucích se dojníc a tímto procesem i do primární mikroflóry mléka.

Červnový bazénový vzorek opět ukazuje vysoký nárůst sporulátů, což je patrné z Obrázku č. 22, ovšem vzorky od sledovaných dojníc žádný nárůst neobsahovaly. V červnovém odběru byla zaznamenána teplota ovzduší 26 °C a 2,7 mm srážek a v souvislosti s pastevním obdobím by se mohlo jednat o kontaminaci ze znečištěných struků. Dojnice se pasou od časných ranních hodin do pozdního odpoledne. Často ulehávají k odpočinku a přežvykávají do stinných míst, která jsou obklopana při horkých dnech celým stádem. Luční porost tímto bývá poničen a při ulehávání dojníc na tato bahnitá místa dochází často k ulpění nečistot na celém povrchu mléčné žlázy. V souvislosti s vyšší zaznamenanou teplotou ovzduší, musely dojnice ulehnout k odpočinku do stínu a vzhledem ke srážkám musela být tato místa vysoce vlhká a studená, což znamená vysokou míru atraktivnosti pro

dojnice. Dojnice vyhledává v teplých dnech místa, kde se může zchladit, aby její organismus nepřecházel do tepelného stresu.

Červenostřakatá dojnice na první laktaci (vzorek C1) měla v srpnovém odběru nárůst anaerobních sporulátů. Obdobně také v případě bazénového vzorku byl identifikován zvýšený počet anaerobních sporulátů v srpnovém odběru. Anaerobní sporuláty jsou mikroorganismy, které za nepříznivých podmínek vytváří spory přežívající i pasterační ohřev. V anaerobním prostředí vyklíčí a namnoží se. Nepříznivě se projevují hlavně při výrobě sýrů a trvanlivých výrobků uzavřených v neprodyšných obalech. Způsobují rozklad mléčných výrobků za doprovodu tvorby plynu. Aerobní sporuláty se ve zvýšené míře vyskytují v nedostatečně chlazených pasterovaných výrobcích (bakterie rodu *Bacillus*). Bakterie máselného kvašení, rod *Clostridium* se podílí na znehodnocení mléčných výrobků, a to hlavně mléka a sýrů. Do mléka se tyto bakterie dostávají s nečistotami, tedy ze silně znečištěného vemene, nebo zkrmováním nevhodných krmiv (zaplísňená senáž, nebo špatně prokysaná senáž).^{[20][19]} Identifikace bakteriálního rodu *Clostridium* je kultivačními metodami snadná a vychází ze skutečnosti tvorby endospor, je obligátně anaerobní a grampozitivní. Pro stanovení klostridií se hojně využívá obohacené médium (RCA – Reinforced Clostridial Agar), které je určeno pro stanovení celkového počtu sporotvorných klostridií.^{[19][17]} V článku od Vissers a kolektiv^[19] stojí, že zatímco správná praxe chovu dojnic, včetně přiměřené hygieny stáje, krmení a dojení jsou nepostradatelná, tak koncentrace endospor v senáži a siláži, je nejdůležitějším parametrem ovlivňující nadojené syrové mléko v počtu spor. Anaerobní bakterie jsou na farmách všudypřítomné, a tak se riziku kontaminace snaží každá farma zamezit, ale mohou ji pouze snížit. Trávení kontaminované senáže kravským bachorem ještě více zhoršuje problémy, protože se zvyšující se koncentrací spor v krmení se zvyšuje koncentrace spor ve stolici a to dokonce 3 – 5x více ve srovnání se zkrmováním kvalitní senáže. Takto kontaminované výkaly při opětovném použití kontaminují půdu, podestýlku v lehacích plochách, která se přichytává na vemeno a struky. Nakonec se spory dostanou do mléka během procesu dojení.^[19] Zucali a kolektiv^[20] provedli studii na 23 mléčných farmách a dospěli k závěru, že farmy, které věnovaly větší pozornost technologii dojení (používání rukavic, pre-dipping a odstříkávání), získaly pozitivní výsledky v důsledku nižších anaerobních sporulátů v syrovém mléce.^[20]

Obrázek č. 22: Vliv pastevního období na výskyt anaerobních sporulátů v syrovém mléce.



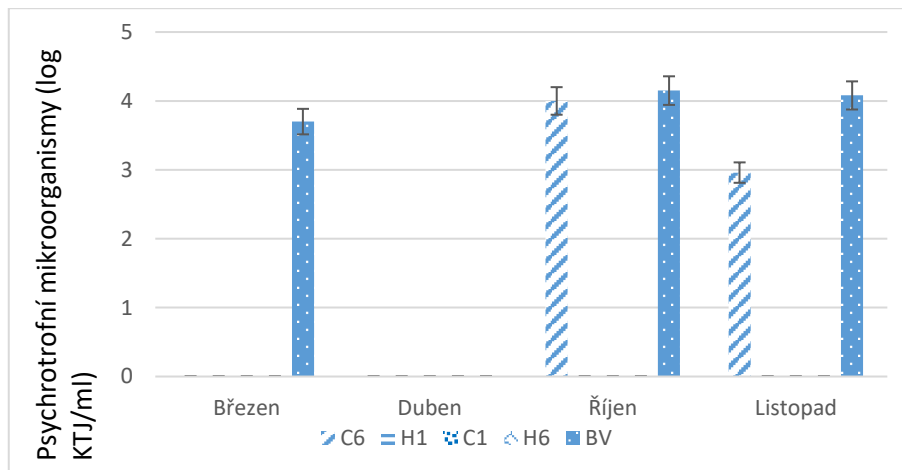
6.1.3 Psychrotrofní mikroorganismy

V březnu, říjnu i listopadu byl zjištěn největší nárůst psychrotrofních mikroorganismů u bazénového vzorku, což je vyobrazeno na Obrázku č. 23. U bazénových vzorků byl stanoven stejný počet psychrotrofních mikroorganismů i v laboratoři analyzující vzorky mléka pro zpeněžování. Tyto vzorky posílá mlékárna do nezávislé laboratoře. Z faremního deníku byla čerpána informace o špatném seřízení dezinfekčního zařízení, a ačkoliv bylo po zjištění výskytu vysokého počtu psychrotrofních mikroorganismů ihned zahájeno pátrání po původci, ani přivolaní servisní technici nedokázali identifikovat problém. I přestože byl biofilm narostlý v průtokoměru obrovský, byl zvýšený výskyt psychrotrofních zaznamenán jen v měsících březnu, červnu, září, říjnu a listopadu (vztaženo i na Obrázek č. 23, jenž je uveden v pastevním období). Obrázek č. 24 byl focen v listopadu 2021, při nefunkčnosti průtokoměru. Průtokoměr musel být rozebrán, dokonale vyčištěn a opraven. Nakonec byl zjištěn nález biofilmu i v dalších dvou průtokoměrech, ale v menším množství, než je na Obrázku č. 24. Po prodiskutování tohoto problému s odborníkem na kalibraci průtokoměrů byla zjištěna příčina vzniklého problému ve špatném servisování celého dojícího zařízení. Tento problém byl identifikován ve strojovně, kde je uložena vývěva, a pod regulačním ventilem podtlaku byla nepatrná trhlinka, která přisávala vzduch. Trhlinka způsobila nedostatečné dezinfikování průtokoměrů a sběračů mléka na konci dojírny. V říjnu a listopadu byl stanoven počet psychrotrofních mikroorganismů u dojnice C6. Tato dojnice má vzhledem ke svému pokročilému počtu laktací zvětšené strukové

kanálky, a tak se jí nesevřou po vydojení, jak by bylo optimální. Nedokonalé uzavření strukového kanálku může způsobovat vniknutí mikroorganismů z prostředí dovnitř struku, posléze do celé mléčné žlázy.^[40] Kvůli této indispozici má pravděpodobně ve většině odebíraných vzorků mléka zvýšený počet mikroorganismů.

Význam psychrotrofních mikroorganismů spočívá u chladírensky skladovaných potravin a surovin. Jedná se většinou o gramnegativní oxidáza pozitivní tyčinky (*Pseudomonas*, *Moraxella*, *Serratia* a *Acinetobacter*), které mají značnou proteolytickou a lipolytickou aktivitu.^[17] Syrové mléko poskytuje vhodné prostředí pro široké spektrum mikroorganismů, a to včetně řady psychrotrofních bakteriálních druhů (např. *Pseudomonas*), které kontaminují mléko během dojení, nebo při dalším zpracování. Podle Sørhaug a Stepaniak^[21] obsahuje syrové mléko převážně gramnegativní bakterie rodu *Pseudomonas*, *Achromobacter*, *Aeromonas*, *Serratia*, *Alcaligenes* a *Flavobacterium* spp. Ovšem mléko odebrané z vemene často neobsahuje zjištěitelné psychrotrofní populace kultivačními metodami. Tyto populace se postupem času vyvíjejí u veškerého syrového mléka skladovaného v chladírenských podmínkách. Prvním bodem pro minimalizaci kontaminace syrového mléka je zajistit technologické postupy tak, aby bylo mléko získáváno za správných hygienických podmínek. Druhý bod je závislý na odpovídající sanitaci veškerého zařízení pro získávání a skladování chlazeného syrového mléka. V tomto bodě je nutné zabránit uchyťování biofilmu uvnitř dojaček (dojící zařízení sestávající se ze strukových návleků, pulzních hadic a sběrače mléka), mléčných hadicích, trubkách a chladících tancích. Tento biofilm se vytváří v případě nízkých koncentrací sanitčních prostředků, nebo špatně nastaveného sanitčního programu. Pro sanitaci je nutné střídat kyselé a alkalické dezinfekce, nejlépe po každém dojení čistit rozdílnou dezinfekcí. Na farmě, kde probíhal odběr je nutné po ranním dojení spouštět sanitaci s kyselou dezinfekcí a po odpoledním dojení spouštět sanitaci s alkalickou dezinfekcí. Biofilm představuje riziko, jelikož jeho usazení v dojícím zařízení, nebo v chladícím tanku představuje kontaminaci pro jakékoliv následující várky mléka.^[21]

Obrázek č. 23: Vliv zimního období na výskyt psychrotrofních mikroorganismů v syrovém mléce.



Obrázek č. 24: Narostlý biofilm v průtokoměru.

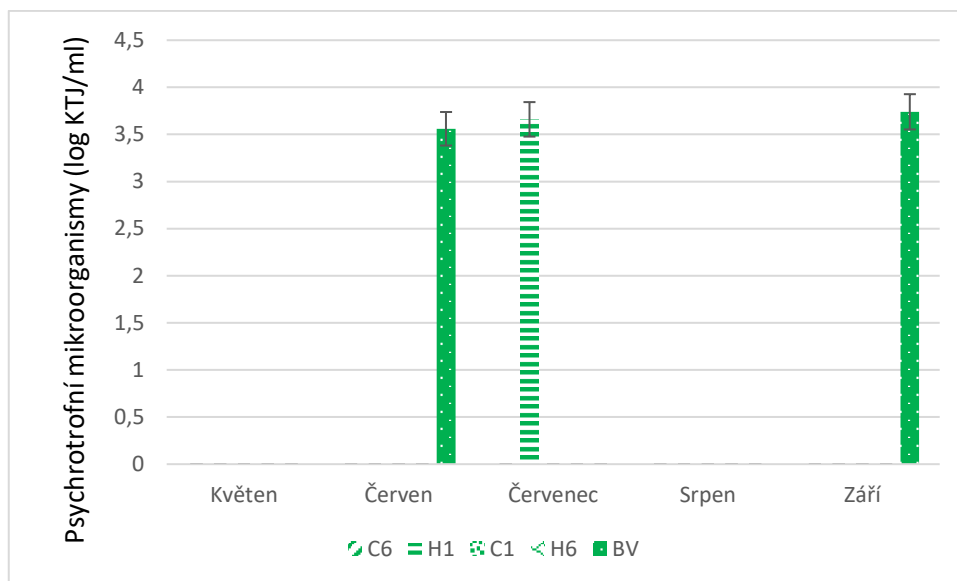


Zdroj: Vlastní fotografie.

Souvislost zvýšeného počtu psychrotrofních mikroorganismů u bazénového vzorku ze zimního období a pastevního období byla již uvedena v souvislosti s trhlinou v zařízení na dojení pod regulačním ventilem. Výskyt psychrotrofů byl jasným pochybením servisních techniků, kteří byli povoláni k problému, jenž nedokázali po dlouhou dobu identifikovat.

V červenci byl stanoven zvýšený výskyt psychrotrofních mikroorganismů u dojnice H1, což je vyobrazeno na Obrázku č. 25. Tato mladá dojnice na první laktaci měla v měsíci červenci diagnostikovaný zánět mléčné žlázy.

Obrázek č. 25: Vliv pasterování období na výskyt psychrotrofních mikroorganismů v syrovém mléce.



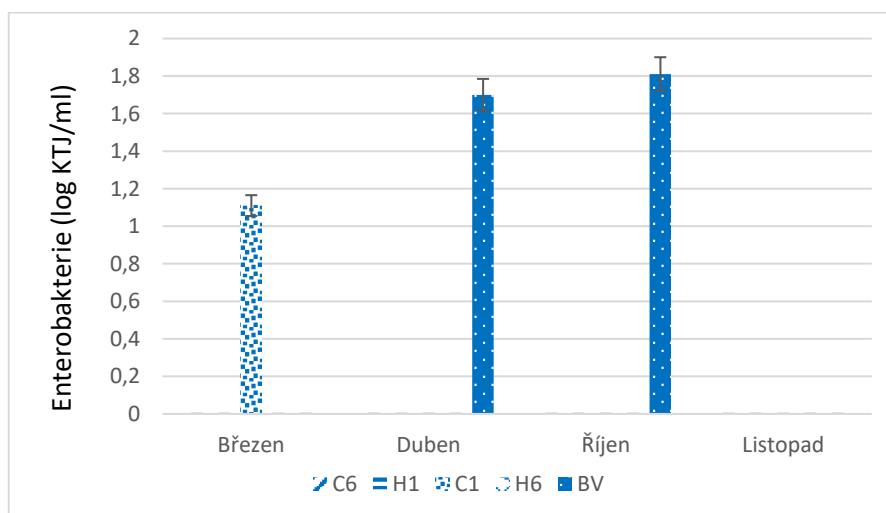
6.1.4 *Enterobacteriaceae*

V zimním období na Obrázku č. 26, byl identifikován zvýšený počet enterobakterií v bazénovém vzorku v měsíci dubnu a říjnu a u červenostrakaté dojnice na první laktaci v měsíci březnu (vzorek C1). Červenostrakaté dojnici na první laktaci byl v měsíci březnu diagnostikován velmi silný zánět v levé přední čtvrti mléčné žlázy. Byla pozorována změna na mléčné žláze v podobě otoku a bolestivosti. Při propuknutí onemocnění je průběh mastitidy vždy s výraznými klinickými změnami na mléčné žláze a dochází i ke změně ve vzhledu a konzistenci mléka. Jednalo se nejprve o vločkování, nakonec o hnisavý a krvavý sekret. Celkový zdravotní stav dojnice byl narušen, objevila se horečka a nechutenství. Pro stanovení léčby bylo nutné nejprve odebrat vzorek mléka z postižené čtvrti a následně předat veterinárnímu technikovi na kultivaci. Po 24 hodinách bylo zřejmé z výsledků kultivace, že se jednalo o zánět z prostředí, který způsobila bakterie *Escherichia coli*. Po tomto zjištění byla zahájena symptomatická léčba v podobě intravenózního podání hypertonického salinického roztoku. Další symptomatickou léčbou se udává rozmasírování postižené čtvrti při dojení chladivou masťou a důkladné vydojování.

Tímto se snižuje bolestivost a rozvoj zánětlivého procesu. Podání antibiotik citlivých ke gramnegativním bakteriím parenterální formou představuje prevenci nástupu sepse. [39] Vzhledem k plemenné příslušnosti dané dojnice se zánět podařil pomocí výše uvedené léčby a techniky vydojování alespoň částečně vyléčit. Nyní tato červenostrakatá dojnice (vzorek C1) dojí mléko pouze třemi struky, jelikož postiženou čtvrt' bakterií *Escherichia coli* již nebylo možné zachránit. U tohoto typu zánětu se musí zahájit léčba ihned, jelikož zánět postupuje velice rychle a pak není možné zachránit ani samotnou dojnici. Původcem koliformní mastitidy je *Escherichia coli*, *Escherichia bacter* a další střevní bakterie. Do mléčné žlázy přechází tato bakterie pomocí kontaktu struku se znečištěnou podestýlkou, nebo nedostatečně dezinfikovaným dojícím strojem. Pro dostatečné uzavření strukového kanálku je nutné povrch celého struku důkladně dezinfikovat. [40] Na farmě, kde probíhal odběr se používá přípravek s názvem Fortex Blue (Výrobce CHRISTEYNS spol. s.r.o.) sestávající se z chlorhexidin glukonátu. Jedná se o modrou viskózní kapalinu, která se užívá jako tekutý dezinfekční přípravek pro dezinfekci mléčné žlázy po dojení. [41]

V dubnu 2021 bylo zjištěno, že jeden z ošetřovatelů nedbá na řádné hygienické podmínky při získávání mléka. Tento ošetřovatel nepoužíval jednorázové latexové rukavice, načež byl na tento přestupek upozorněn a řádně sankcionován. Nepoužitím ochranných pomůcek způsoboval přenos nečistot na povrch kůže struků. Při používání rukavic jsou zřetelně vidět všechny nečistoty. Tyto nečistoty musí před zahájením odstříků umýt a otřít dezinfekčním roztokem, aby nedošlo k rozvoji zánětů, popřípadě další kontaminaci do dojícího zařízení.

Obrázek č. 26: Vliv zimního období na výskyt enterobakterií v syrovém mléce.

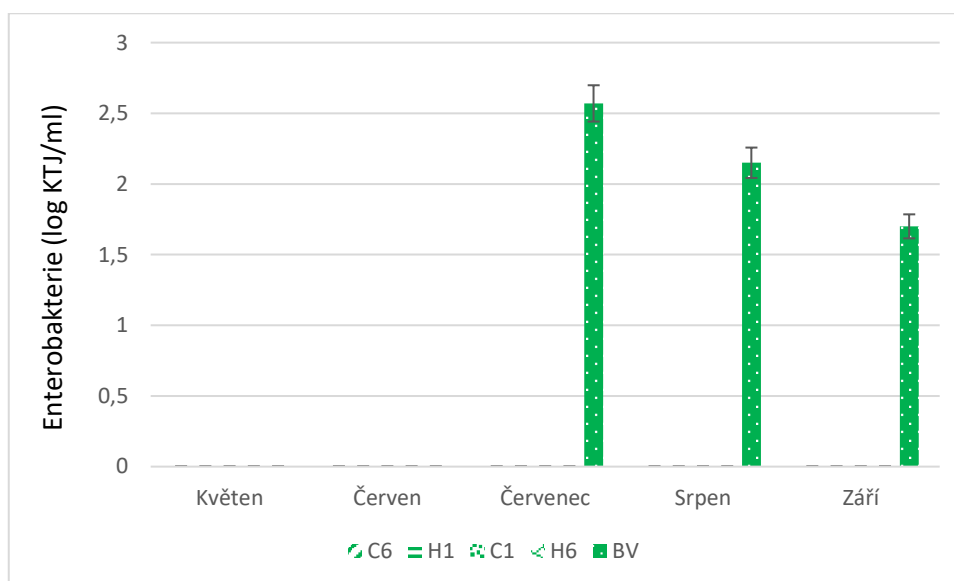


Vliv pastevního období má také vliv na rozvoj koliformních bakterií v mléce, což je možné pozorovat u bazénových vzorků Obrázek č. 27. Vzhledem k počtu srážek v červenci, srpnu i září docházelo k rychlému obrůstání travnatého porostu, který byl předtím posekán a spasen. Právě spásání čerstvého porostu spolu s tepelným stresem způsobuje u většiny krav změnu stolice a tímto je zapotřebí dbát na vysokou úroveň hygieny na dojárně. Zvýšený počet koliformních bakterií je zaznamenán pouze v bazénovém vzorku a tímto je jisté, že ačkoliv se prováděla rutinní kontrola zootechnikem na dojárně, bylo mléko kontaminováno znečištěnou strukovou gumou. Při pozorování příchozích krav na dojírnu bylo patrné znečištění právě průjmem, a to jak při nástupu, tak v dojícím stání. V tomto případě se objeví fekální znečištění na všech nejbližších předmětech, kolem kterých dojnice procházela a vzhledem k vodnatější konzistenci stolice se kapénky s přítomnými bakteriemi rozptýlí do širšího okolí než při husté konzistenci. Oplachování znečištěných míst musí probíhat dle zavedených faremních postupů, aby nedocházelo k sekundární kontaminaci při rozptýlení kapének vody s fekáliemi.^[6] Postup je jednoduchý, ale je třeba ho přísně dodržovat. Nejprve se musí oplachovat dojící stání (spodní část zahrnující zem), až poté oplachovat dojící stroj společně s hadicemi. Po oplachování vodou se doporučuje provést dezinfekce roztokem kyseliny peroxyoctové (15%), která nevykazuje žádný reziduální efekt. Rozkládá se na neškodné komponenty (voda, oxid uhličitý a kyslík), což znamená, že nevznikají žádná rezidua v mléce. Je rovněž šetrná k životnímu prostředí a představuje tak správnou volbu pro ekologické farmy. ^[22] Ačkoliv se dbalo zvýšené hygienické pozornosti, přesto bylo identifikováno zvýšené množství koliformních bakterií v bazénových vzorcích. Nejednou možnou alternativou pro vysvětlení zvýšeného počtu koliformních bakterií v bazénovém vzorku je nedodržení správného postupu oplachu dojícího stání a strojů. Pro nejefektivnější snížení kontaminace mléka by se mělo po zaměstnancích vyžadovat správné provedení předepsaných postupů práce a zároveň kontrolovat, zda se tyto postupy neustále dodržují.

Bazénový vzorek obsahoval zvýšený počet enterobakterií nejen v zimním, ale i v pastevním období na Obrázku č. 27. Měsíce duben, červenec, srpen září i říjen byly z hlediska kvality mléka z pohledu odběratele velice špatné, jelikož mlékárna dbá na nejvyšší možnou čistotou syrového mléka pro výrobu sýrů. Koliformní bakterie způsobují při výrobě sýrů polotvrdých a tvrdých časné duření, což je velmi vážná vada, která se může projevit již při lisování, nebo solení. Chuť sýrů bývá nasládlá a zároveň nepříjemně

páchne, což je způsobeno právě rozvojem koliformních bakterií, jenž zkvašují laktózu. [42] Do čeledi *Enterobacteriaceae* se řadí aerobní a fakultativně anaerobní gramnegativní rovné tyčinky se zaoblenými konci. Mikroorganismy z čeledi *Enterobacteriaceae* fermentují glukózu s tvorbou kyseliny, plynu a vykazují negativní oxidázovou reakci. Další dělení čeledě je na základě jejich schopnosti zkvašování laktózy a tím se dělí na laktóza pozitivní (koliformní bakterie) a laktóza negativní druhy (salmonely a shigely). [17]

Obrázek č. 27: Vliv pastevního období na výskyt enterobakterií v syrovém mléce.

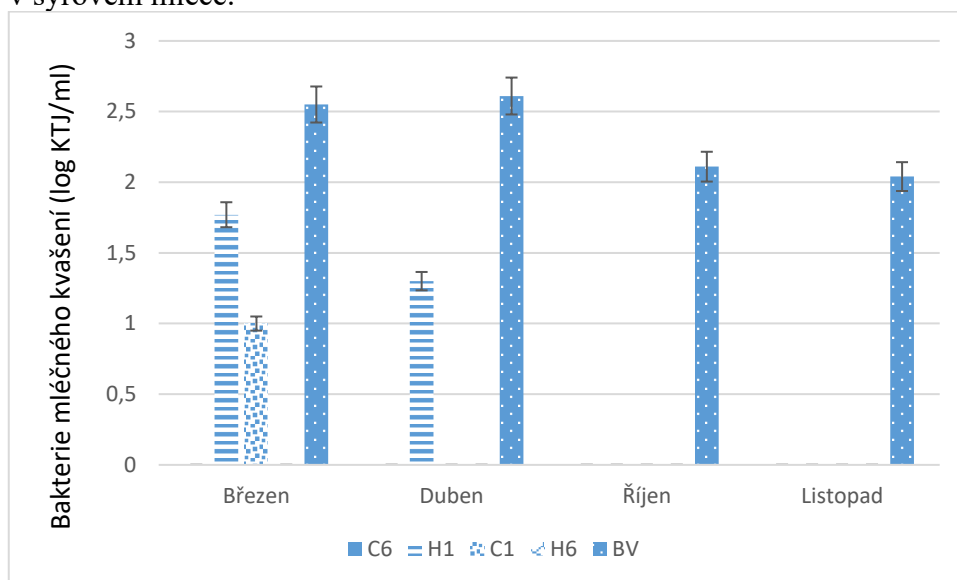


6.1.5 Bakterie mléčného kvašení

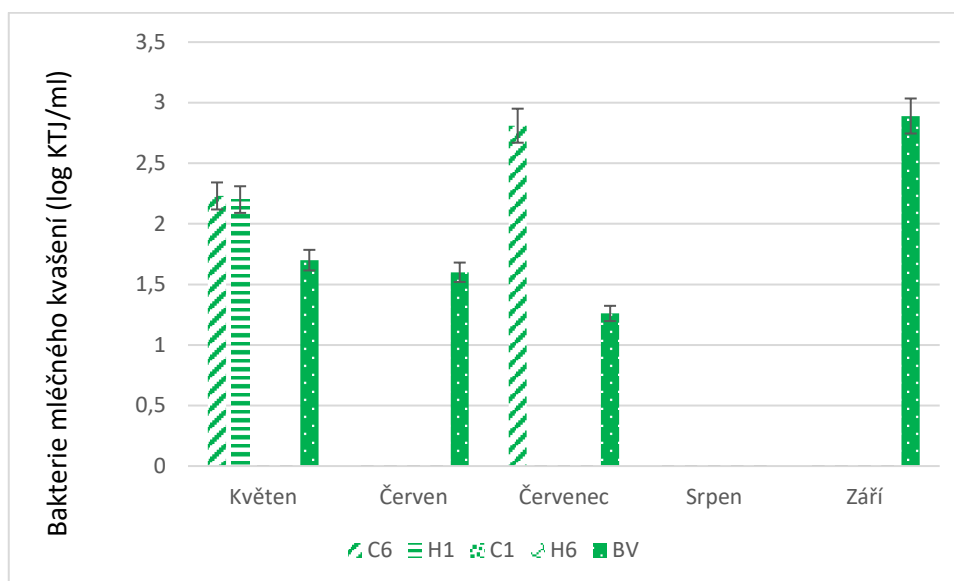
Holštýnské dojnici na šesté laktaci (vzorek H6) byl v měsíci březnu a dubnu zaznamenán výskyt mezofilních bakterií mléčného kvašení, jenž dokazuje Obrázek č. 28. Červenostřakaté dojnici na první laktaci (vzorek C1) byl zaznamenán v měsíci březnu výskyt mezofilních bakterií mléčného kvašení, což vyobrazuje Obrázek č. 28. Bazénový vzorek obsahoval v celém zimním období mezofilní bakterie mléčného kvašení, což je možné pozorovat na Obrázku č. 28. Vzhledem k použitému MRS agaru bylo možné pomocí morfologických znaků zjistit, že se jedná o kolonie laktobacilů. Jsou okrouhlé, pravidelné a hladké s charakteristickým kyselým zápachem. [43] V syrovém mléce u analyzovaných krav a bazénového vzorku byl zjištěn zvýšený počet laktobacilů, které posilují obranu imunitního systému a zachovávají funkčnost střevní bakteriální flóry. Přestože byl zjištěn zvýšený počet laktobacilů v syrovém mléce, tak po pasteraci syrového mléka v mlékárně se enzymy laktobacilů deaktivují.

Laktobacily se mohou vyskytovat v syrovém mléce, které se prodává v mléčných automatech přímo na farmách. Nicméně může obsahovat také jiné mikroorganismy, které jsou při pasteraci deaktivovány a po správném provedení tepelného ošetření tak nepředstavují riziko pro spotřebitele. Při prodeji syrového mléka z automatů jsou kupující upozorněni pokyny umístěnými na automatu. Upozornění se týká nutnosti tepelného ošetření mléka před jeho konzumací a to převařením.^[13] Čerstvě nadojené mléko od krávy má bezesporu výbornou nutriční hodnotu. Je však zásadní ze strany kupujícího zajistit také jeho zdravotní nezávadnost před samotnou konzumací. Mnoho spotřebitelů ovšem upozornění o převaření nerespektuje a tím mezi nimi vznikají často průjmová a střevní onemocnění jako jsou kamylobakteriízy, salmonelózy a jiné alimentární onemocnění.^[9]

Obrázek č. 28: Vliv zimního období na počet mezofilních bakterií mléčného kvašení v syrovém mléce.



Obrázek č. 29: Vliv pastevního období na počet mezofilních bakterií mléčného kvašení v syrovém mléce.



Červenostrakatá dojnice na šesté laktaci měla v měsíci květnu a červenci identifikován výskyt laktobacilů v syrovém mléce, jenž zobrazuje Obrázek č. 29.

Holštýnská dojnice na první laktaci měla obsah laktobacilů v syrovém mléce pouze v měsíci květnu. Bazénový vzorek obsahoval laktobacily ve všech sledovaných měsících. V srpnu nebyl identifikován výskyt žádných bakterií mléčného kvašení na půdě MRS jelikož došlo ke znehodnocení misek plísní u bazénových vzorků. Co se týká vzorků ostatních dojnic, nebyl zaznamenán nárůst žádných kolonií. [43]

Bakterie mléčného kvašení jsou tradičně používány pro fermentaci potravin a krmiv a jsou všeobecně považovány za prospěšné mikroorganismy. Bakterie mléčného kvašení mají především technologickou funkci, která souvisí se schopností přeměnit substráty (sacharidy, bílkoviny a lipidy) na metabolity ovlivňující chuť, vůni a konzistenci potravin. Mají protektivní a probiotickou funkci. Protektivní funkce je spojena s produkcí antimikrobiálně aktivních metabolitů (organické kyseliny, diacetyl, acetaldehyd, bakteriociny atd.) kde zvyšuje bezpečnost potravin a prodlužuje jejich trvanlivost. Probiotická funkce vyplývá z aktivit bakterií mléčného kvašení (chemické, biochemické a mikrobiologické povahy) jejichž výsledkem je pozitivní působení na zdravotní stav lidí i zvířat. Termín „bakterie mléčného kvašení“ se začal používat pro bakterie srážející mléko. Na základě postupného rozšíření znalostí o vlastnostech bakterií mléčného kvašení se výrazně rozšířil počet rodů. Mezi tyto se řadí například laktokoky, enterokoky, streptokoky, leukonostoky, pediokoky atd. Nejvýznamnějším rodem jsou laktobacily,

grampozitivní nesporulující, nepohyblivé tyčinky vyskytující se v palisádách či řetězcích. Jsou nutričně náročné, fakultativně anaerobní či mikroaerofilní. ^[43]

7 ZÁVĚR

Cílem diplomové práce bylo sledovat a vyhodnotit stanovované vzorky, které byly odebírány od předem určených dojníc a v souvislosti s pozorovanými faktory vyhodnotit, zda má roční období, plemeno dojnice a počet laktací vliv na mikrobiologii mléka.

Při stanovování celkového počtu mikroorganismů bylo zjištěno, že největší souvislost se zvýšeným celkovým počtem mikroorganismů měl počet laktací dojnice. Starší dojnice (vzorek C6) s ochablými strukovými svěrači měla vysoké celkové počty mikroorganismů, na rozdíl od mladé holštýnské dojnice (vzorek H1), která má strukové svěrače stále vitální, jelikož nejsou namáhány dojícími stroji v takovém rozsahu, jako u dojnice s vyšším počtem laktací. Pouze v měsíci červenci byl zaznamenán vysoký nárůst kolonií u vzorku H1, jelikož tato dojnice onemocněla zánětem mléčné žlázy. Mikrobiologické parametry bazénových vzorků byly nejvyšší mírou ovlivněny hygienou dojení a dodržováním správných postupů pro získávání mléka. Jejich celkový počet mikroorganismů byl kolísavý.

Při stanovování anaerobních sporulátů bylo zjištěno, že červenostrakatá dojnice na šesté laktaci (vzorek C6) společně s holštýnskou dojnicí na první laktaci (vzorek H1) měly v pastevním období nejvyšší počty těchto mikroorganismů. Tyto počty mikroorganismů byly zvýšené v souvislosti se spásáním čerstvé trávy potřísněné zeminou z důvodu četných a nárazových srážek. Anaerobní sporuláty se vyskytují hlavně v nekvalitní senáži (zejména v bocích senážní jámy), tím dochází k trávení sporulátů kravským bachorem a tím dochází ke zvyšování koncentrace spor ve stolici. Tyto výkaly pak kontaminují půdu (hnojením) a podestýlku, jenž se přichytává na vemena a struky. Hygienou dojení je pak možné sporuláty pouze eliminovat, nikoliv zneškodnit.

U psychrotrofních mikroorganismů byl stanoven vysoký výskyt u bazénových vzorků v důsledku špatného seřízení sanitačního zařízení. Ihned po vysokých výskytech zaznamenaných v akreditované laboratoři bylo zahájeno pátrání po původci, avšak ani servisní technici specializovaní na opravu a údržbu dojíren nebyli schopni identifikovat problém. Po kalibraci průtokoměrů jiným servisním technikem byla zjištěna nepatrná trhlinka pod regulačním ventilem. Trhlinka přisávala vzduch a tím pádem docházelo k nedostatečné sanitaci (slabý tlak vody) celého dojícího zařízení a následnému vzniku biofilmu v průtokoměrech.

Enterobakterie v mléce vypovídají o fekálním znečištění syrového mléka, což bylo stanoveno právě v bazénových vzorcích. Zvýšené počty byly stanoveny u červenostrakaté dojnice na první laktaci (vzorek C1) a to z důvodu mastitidy. U této dojnice byl diagnostikován zánět mléčné žlázy patogenem *Escherichia coli*. Pokud se okamžitě zahájí u této mastitidy symptomatická léčba, je vyšší míra pravděpodobnosti, že se dojnice vyléčí. Pokud by došlo k podcenění zánětu mohlo by dojít k úhynu. Pro dostatečné uzavření strukového kanálku je nutné dodržovat správné hygienické postupy na dojárně a také faremní postupy (po podojení musí jít dojnice ke krmišti a věnovat se krmení, nikoliv jít ležet do postýlky).

Závěrem je nutné podotknout, že pasterizační období má jistě pozitivní vliv na mikrobiální kvalitu mléka. Vyšší počet laktací má vzhledem k namáhavosti struků negativní vliv na mikrobiologii mléka, a to z důvodu průniku nežádoucích mikroorganismů do struku (neuzavře se dokonale strukový kanálek), potažmo do celé mléčné žlázy. Plemenná příslušnost dojnice se na mikrobiologii mléka neprojevila, jediný rozdíl mezi těmito dojnicemi je v užitkovosti.

SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

- [1] Lisa Quigley, Orla O'Sullivan, Catherine Stanton, Tom P. Beresford, R. Paul Ross, Gerald F. Fitzgerald, Paul D. Cotter, *The complex microbiota of raw milk*, FEMS Microbiology Reviews, Volume 37, Issue 5, September 2013.
- [2] GAJDŮŠEK, S. *Základní principy čištění a dezinfekce. Čištění a dezinfekce v prvovýrobě mléka*. 1. vyd. Brno: Pobočka Moravský svaz vědeckotechnických společností a poboček Agronomické fakulty MZLU Brno, 1996.
- [3] LUKÁŠOVÁ, J. *Hygienické podmínky získávání jakostního syrového kravského mléka*, *Náš chov*, 9, 1997.
- [4] LUKÁŠOVÁ, J. *Hygiena a technologie mléčných výrobků*. Brno: Veterinární a farmaceutická univerzita, 2001. ISBN 80-7305-415-9
- [5] ČMSCH, a.s. - *Rozbory zpeněžování*. ČMSCH, a.s. - Úvod [online]. Copyright © 2017 [cit. 11.03.2022]. Dostupné z: <https://www.cmsch.cz/laboratore/lrm-laborator-pro-rozbor-mleka/rozbory-mleka/rozbory-zpenezovani/>.
- [6] Navrátilová, Králová, Janštová, *Hygiena produkce mléka*, Veterinární a farmaceutická univerzita Brno, 2012.
- [7] Bezpečnost potravin A-Z. Internetový portál bezpečnosti potravin - [online]. [cit. 11.03.2022]. Dostupné z: <https://www.bezpecnostpotravin.cz/az/termin/76704.aspx>.
- [8] Khanitta Ruangwittayanusorn, Doungnapa Promket, Anut Chantiratikul, *Monitoring the hygiene of raw milk from farms to milk retailers*, *Agriculture and Agricultural Science Procedia*, Volume 11, 2016, Pages 95-99, ISSN 2210-7843.
- [9] Rizika konzumace syrového kravského mléka | Veterinářství. Veterinářství [online]. Copyright © [cit. 13.03.2022]. Dostupné z: <https://vetweb.cz/rizika-konzumace-syroveho-kravskeho-mleka/>.
- [10] Salmonelóza – Státní veterinární správa. Státní veterinární správa [online]. [cit. 13.03.2022] Dostupné z: <https://www.svs-cr.cz/zivocisne-produkty/onemocneni-z-potravin/salmoneloz/>.
- [11] FRELICH, J. a KOLEKTIV. *Chov skotu*. 1. České Budějovice: Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích Zemědělská fakulta, 2001. ISBN 80-7040-512-0

- [12] SMETANA P. *Faremní zpracování mléka v ekologickém zemědělství*. Olomouc 2009. ISBN 978-80-904174-5-8.
- [13] Nařízení Komise (ES) č. 1662/2006, kterým se mění nařízení Evropského parlamentu a Rady (ES) č. 853/2004, kterým se stanoví zvláštní hygienická pravidla pro potraviny živočišného původu.
- [14] KIC, Pavel – BROŽ, Václav. *Tvorba stájového prostředí*. Praha: IVV Mze ČR, 1995. ISBN 80-7105-106-3.
- [15] URBAN J. a KOL. *Ekologické zemědělství: učebnice pro školy i praxi, I. díl (Základy ekologického zemědělství, agroenvironmentální aspekty a pěstování rostlin)*, 2003.
- [16] SÝKORA V., KUČHTÍK J., *Farmářská výroba sýrů a kysaných mléčných výrobků XIV*, 2010. ISBN 978-80-7509-494-0.
- [17] BURSOVÁ Š., NECIDOVÁ L., DUŠKOVÁ M., *Mikrobiologie potravin a mikrobiologické laboratorní metody. Obecná mikrobiologie*. Fakulta veterinární hygieny a ekologie, Ústav hygieny a technologie mléka, 2014. ISBN: 978-80-7305-742-8.
- [18] TYLŠOVÁ P., HÁSKOVÁ K., BURSOVÁ Š., *Vyhodnocení výsledků plotnových metod*. Fakulta veterinární hygieny a ekologie, Ústav hygieny a technologie mléka, Brno 2017.
- [19] M.M.M. Vissers, F. Driehuis, M.C. Te Giffel, P. De Jong, J.M.G. Lankveld, *Improving farm management by modeling the contamination of farm tank milk with butyric acid bacteria*, Journal of Dairy Science, Volume 89, Issue 3, 2006, Pages 850-858, ISSN 0022-0302.
- [20] Zucali, M., Bava, L., Colombini, S., Brasca, M., Decimo, M., Morandi, S., et al. (2015). *Management practices and forage quality affecting the contamination of milk with anaerobic spore-forming bacteria*. Journal of the Science of Food and Agriculture.
- [21] Sørhaug T, Stepaniak L (1997) *Psychrotrophs and their enzymes in milk and dairy products: quality aspects*. Trends Food Sci Tech 8:35-41.
- [22] MILCOM a.s., Výzkumný ústav mlékárenský, Praha, 2009. Certifikovaná metodika 1G58063, ISBN 978-904348-0-6.
- [23] VEČEŘOVÁ D., *Doporučení pro správné dojení*, Náš chov, 10, 1997

- [24] Slavík P., Illek J., Matějíček M., Klouda Z. Mléko jako ukazatel zdraví dojníc – bílkoviny. Veterinářství 2004;54:459-464.
- [25] EČER J., KINČL J., Membránové procesy v mlékárenském průmyslu, 2014.
- [26] Dostupné online z: www.agrokompas.cz, cit. 16.10.2021
- [27] PAPOUŠEK I., Geneticky modifikované organismy (GMO), Molekulárně biologická analýza potravin, 2018
- [28] Kotoučková J., 2010. Co je ekologické zemědělství a jak se liší od konvenčního? 6 s. [online]. [cit 2012-31-08].
- [29] AGROPRESS.cz, 2017. Chov zvířat v ekologickém zemědělství [online]. [cit. 2021-10-09]
- [30] BIOMLÉKO – alternativa v době mléčné krize? AGRObase zpravodaj, ČTPEZ, dostupné z: www.ctpez.cz
- [31] ŠARAPATKA, B., URBAN, J. a kol.: Ekologické zemědělství: Učebnice pro školy i praxi, II. díl. 1. vydání – Šumperk, PRO – BIO Svaz ekologických zemědělců, 2005.
- [32] HROUZ, J. a kol: Etologie hospodářských zvířat. Mendelova lesnická a zemědělská univerzita v Brně, první vydání, 2000. 185 s. ISBN: 80-7157-463-5
- [32] Nařízení Rady (ES) č. 834/2007 ze dne 28. června 2007 o ekologické produkci a označování ekologických produktů a o zrušení nařízení (EHS) č. 2092/91.
- [33] Generální ředitelství pro zemědělství a rozvoj venkova, Loga pro ekologické zemědělství [online]. [cit 2021-10-09]. Dostupné z: www.eagri.cz
- [34] Svaz ekologických zemědělců ČR. In: PRO-BIO Svaz ekologických zemědělců ČR [online]. [cit. 2022-10-09]. Dostupné z: <http://www.pro-bio.cz/cesky.htm>
- [35] Kraft, J., Collomb, M., Möckel, P., Sieber, R., & Jahreis, G. (2003): Differences in CLA isomer distribution of cow's milk lipids. Lipids 38(6), 657–664. citace ve: FiBL Dossier Nr. 4 (2006): Qualität und Sicherheit von Bioprodukten, S.8 – Kvalita a bezpečnost bioproduktů (podrobné údaje o zdroji str. 16, odstavec a.
- [36] SEYDLOVÁ R., ROUBAL P. (2010) Biomléko obsahuje prokazatelně více bioaktivních látek, Praha 2010, Ministerstvo zemědělství [online]. [cit. 2022-03-04]. Dostupné z: www.eagri.cz

- [37] DLOUHÝ J., URBAN J. (2011). Česká technologická platforma pro ekologické zemědělství, Fakta o ekologickém zemědělství a biopotravinách pro média. ISBN 978–80–87371–13–8.
- [38] PETR, Jiří a Josef DLOUHÝ. Ekologické zemědělství. Vyd. 1. Praha: Brázda, 1992.
- [39] HERRERA D., *Kolibacilární mastitida*, Laboratories Hipra S.A. [online]. [cit. 2022-03-04]. Dostupné z: [1Kolibacilarni-mastitida.pdf \(bubenicek.cz\)](#)
- [40] STANĚK S., *Mastitidy, příčiny jejich vzniku a prevence*. [online]. [cit. 2022-03-04]. Dostupné z: www.zootechnika.cz
- [41] ÚSTAV PRO STÁTNÍ KONTROLU VETERINÁRNÍCH BIOPREPARÁTŮ A LÉČIV, Seznam DDD (2019) [online]. [cit. 2022-04-05] Dostupné z: www.uskvbl.cz
- [42] Jiří Kopáček, CSc. Českomoravský svaz mlékárenský, *Vady sýrů a faktory, které je ovlivňují* [online]. [cit. 2022-04-05] Dostupné z: www.vumlekarensky.cz
- [43] Potravinářská komora České republiky, Bakterie mléčného kvašení, probiotika a fermentované mléčné výrobky, 2 vydání, Krejsek Jan CSc., ISBN 978-88019-37-4.

SEZNAM OBRÁZKŮ

Obrázek č. 1: Znečištěné vemeno hnojem.....	17
Obrázek č. 2: Očištěné vemeno, připravené k podojení.....	18
Obrázek č. 3: Lehací plochy pro odpočinek dojnic, tzv. „postýlky“	20
Obrázek č. 4: Schéma odstředivky a průběh odstředování.....	22
Obrázek č. 5: Ukázka druhů filtrací.....	25
Obrázek č. 6: Roštové ustájení skotu v konvenčním zemědělství.....	26
Obrázek č. 7: Holštýnské dojnice na pastvě.....	32
Obrázek č. 8: Krmení mláděte.....	32
Obrázek č. 9: Grafický znak BIO, tzv. biozebra.....	33
Obrázek č. 10: Evropské značení ekologické produkce.....	34
Obrázek č. 11: Biomléko s 4% obsahem tuku.....	35
Obrázek č. 12: Dezinfekce struku červenostrakaté dojnice lihovým ubrouskem.....	40
Obrázek č. 13: Vortex mixér sloužící pro homogenizaci obsahu zkumavky.....	42
Obrázek č. 14: Schématické znázornění přípravy ředění.....	43
Obrázek č. 15: Výpočet kolonie tvořících jednotek.....	43
Obrázek č. 16: Plate Count Agar (půda PCA).....	44
Obrázek č. 17: Zesílený klostridiální agar, Reinforced Clostridial Agar (půda RCA).....	45
Obrázek č. 18: Agar s krystalovou violetí, neutrální červení, žlučí a laktózou (VČŽL).....	47
Obrázek č. 19: Vliv zimního období na celkový počet mikroorganismů v syrovém mléce.....	49
Obrázek č. 20: Vliv pastevního období na celkový počet mikroorganismů v syrovém mléce.....	51

Obrázek č. 21: Vliv zimního období na výskyt anaerobních sporulátů v syrovém mléce.....	52
Obrázek č. 22: Vliv pastevního období na výskyt anaerobních sporulátů v syrovém mléce.....	54
Obrázek č. 23: Vliv zimního období na výskyt psychrotrofních mikroorganismů v syrovém mléce.....	56
Obrázek č. 24: Narostlý biofilm v průtokoměru.....	56
Obrázek č. 25: Vliv pastevního období na výskyt psychrotrofních mikroorganismů v syrovém mléce.....	57
Obrázek č. 26: Vliv zimního období na výskyt enterobakterií v syrovém mléce.....	58
Obrázek č. 27: Vliv pastevního období na výskyt enterobakterií v syrovém mléce.....	60
Obrázek č. 28: Vliv zimního období na počet mezofilních bakterií mléčného kvašení v syrovém mléce.....	61
Obrázek č. 29: Vliv pastevního období na počet mezofilních bakterií mléčného kvašení v syrovém mléce.....	62

SEZNAM TABULEK

Tabulka 1: Specifikace enviromentálních podmínek při odběru vzorků syrového mléka.....	39
--	----